

Buňky HEK293-CTLA4 | 305423

Obecné informace

Description

Upozornění: Ceny uvedené u buněčných linií platí výhradně pro akademické a neziskové zákazníky. Pro komerční subjekty činí cena přibližně 6 250 EUR.

Pokud zastupujete komerční subjekt nebo si nejste jisti, do které kategorie spadáte, prosím [nás kontaktujte](#).

Buněčná linie HEK293-CTLA4 je stabilní rekombinantní buněčná linie HEK293, která byla geneticky upravena tak, aby exprimovala receptor CTLA4 na středně nízké úrovni, přibližně 4 000 molekul na buňku. Tato buněčná linie byla vyvinuta pomocí technologie „landing pad“ společnosti inscreenex, která zajišťuje přesnou a reprodukovatelnou integraci genu CTLA4 na specifickém, předem ověřeném genomovém lokusu. CTLA4, známý také jako CD152, je protein imunitního kontrolního bodu, který hraje klíčovou roli v regulaci aktivace T-buněk. Tím, že soutěží se stimulačním receptorem CD28 o vazbu na molekuly B7 (CD80 a CD86) na buňkách prezentujících antigen, CTLA4 potlačuje imunitní reakce, čímž udržuje autotoleranci a zabraňuje autoimunitě. CTLA4 je klíčovým cílem v imunoterapii rakoviny, zejména u léků jako ipilimumab, které mají za cíl posílit protinádorovou imunitu blokováním tohoto kontrolního bodu a aktivací T buněk.

Expresí CTLA4 v této buněčné linii byla potvrzena pomocí průtokové cytometrie s protilátkou specifickou pro cíl, což zajistilo spolehlivou a konzistentní hustotu receptorů v celé buněčné populaci.

Organism

Člověk

Tissue

Fetální ledvina

Disease

Transformované/imortalizované; netumorigenní (na pozadí HEK293)

Applications

Výzkum inhibitorů kontrolních bodů; vývoj protilátek zaměřených na CTLA-4 (ipilimumab, analogy tremelimumabu); testy kostimulace T-buněk; screening v oblasti imuno-onkologie; vývoj bispecifických protilátek

Charakteristika

Age

Plod

Gender

Ženy

Morphology

Epitelu podobné

Cell type

Epitelové buňky

Growth properties

Monovrstva, adherentní

Buňky HEK293-CTLA4 | 305423

Regulační údaje

Citation	HEK293-CTLA4 (katalogové číslo Cytion 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GMO-S1: Tato varianta HEK293 obsahuje expresní konstrukt CTLA-4 pro výzkum kontrolních bodů imunity. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)
---------------------	---------------

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Médium doplňte 10% FBS, 1 mM pyruvát sodným, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Přidejte geneticin (G418-Sulfat), abyste dosáhli konečné koncentrace 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Trypsin-EDTA
Doubling time	cca 24–36 hodin
Subculturing	Pro běžné kultivace adherentních buněk: Z adherentních buněk odsadte staré kultivační médium a promyjte je PBS, abyste odstranili veškeré zbývající médium. Po odsátí PBS přidejte odpovídající objem roztoku trypsinu/EDTA podle velikosti kultivační nádoby (např. 1 ml pro baňku T25, 3 ml pro baňku T75) a inkubujte při pokojové teplotě nebo 37 °C, dokud se buňky neoddělí (5-10 minut). Oddělování sledujte pod mikroskopem a v případě potřeby jemně poklepejte na nádobu, aby se buňky uvolnily. Po oddělení přidejte kompletní médium k inaktivaci trypsinu/EDTA, jemně resuspendujte buňky a alikvotní část buněčné suspenze přeneste do nové kultivační nádoby obsahující čerstvé médium. Umístěte nádobu do inkubátoru nastaveného na 37 °C s 5 % CO ₂ a každé 2 až 3 dny vyměňte médium.
Split ratio	1 až 5

Buňky HEK293-CTLA4 | 305423

Seeding density 2 až 4 x 10⁴ buněk/cm²

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení rozdělte buňky v poměru 1:2 až 1:3 do baněk T25 a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazování a adherovat (v případě adherujících kultur).

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazícího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Buňky HEK293-CTLA4 | 305423

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating Žádný

Freezing Procedure Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.