Product sheet

HEK293-CTLA4-celler | 305423

Generel information

Description	**Ansvarsfraskrivelse: De angivne priser på cellelinjer gælder udelukkende for akademiske kunder og kunder uden gevinst for øje. For kommercielle virksomheder er prisen ca. 6.250 €.** **Hvis du repræsenterer en kommerciel virksomhed eller er i tvivl om, hvilken kategori der gælder, bedes du kontakte os.** HEK293-CTLA4-cellelinjen er en stabil rekombinant HEK293-cellelinje, der er udviklet til at udtrykke CTLA4-receptoren på et mellem-lavt niveau, ca. 4.000 molekyler pr. celle. Denne cellelinje er udviklet ved hjælp af inscreenex's landing pad-teknologi, hvilket sikrer præcis og reproducerbar integration af CTLA4-genet på et specifikt, forvalideret genomisk locus. CTLA4, også kendt som CD152, er et immuncheckpoint-protein, der spiller en afgørende rolle i reguleringen af T-celleaktivering. Ved at konkurrere med den stimulerende receptor CD28 om binding til B7-molekyler (CD80 og CD86) på antigenpræsenterende celler nedregulerer CTLA4 immunresponser og opretholder dermed selvtolerance og forhindrer autoimmunitet. CTLA4 er et centralt mål i kræftimmunterapi, især for lægemidler som ipilimumab, der har til formål at styrke antitumorimmuniteten ved at blokere dette checkpoint og aktivere T-celler. Ekspressionen af CTLA4 i denne cellelinje blev bekræftet ved hjælp af flowcytometri med et målspecifikt antistof, hvilket sikrede en pålidelig og konsistent receptortæthed på tværs af cellepopulationen.
Organism	Menneske
Tissue	Fosterets nyre
Disease	Transformeret/udeværet; ikke-tumorigen (HEK293-baggrund)
Applications	Forskning i checkpoint-hæmmere; udvikling af antistoffer rettet mod CTLA-4 (ipilimumab, tremelimumab-analoger); analyser af T-celle-kostimulering; screening inden for immuno-onkologi; udvikling af bispecifikke antistoffer

Karakteristika

Age	Foster
Gender	Kvinde
Morphology	Epitel-lignende
Cell type	Epitheliale celler
Growth properties	Monolag, klæbende

Product sheet

HEK293-CTLA4-celler | 305423

Regulatoriske data

Citation	HEK293-CTLA4 (Cytion katalognummer 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GMO-S1: Denne HEK293-variant indeholder en CTLA-4-ekspressionskonstruktion til forskning i immunkontrolpunkter. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS, 1 mM natriumpyruvat, 10 mM HEPES, 1 % NEAA. Tilsæt Geneticin (G418-Sulfat) for at opnå en endelig koncentration på 1 mg/mL.
Dissociation Reagent	Trypsin-EDTA
Doubling time	ca. 24–36 timer
Subculturing	Til rutinemæssig adhærent cellekultur: Aspirer det gamle dyrkningsmedium fra de adhærente celler, og vask dem med PBS for at fjerne eventuelt resterende medium. Efter opsugning af PBS tilsættes den passende mængde Trypsin/EDTA-opløsning baseret på kulturbeholderens størrelse (f.eks. 1 ml til en T25-kolbe, 3 ml til en T75-kolbe), og der inkuberes ved stuetemperatur eller 37 °C, indtil cellerne løsner sig (5-10 minutter). Overvåg løsrivelsen under et mikroskop, og bank forsigtigt på beholderen, hvis det er nødvendigt for at frigøre cellerne. Når cellerne er løsnet, tilsættes komplet medium for at inaktivere trypsin/EDTA, cellerne resuspenderes forsigtigt, og en alikvot del af cellesuspensionen overføres til en ny kulturbeholder, der indeholder frisk medium. Anbring beholderen i en inkubator, der er indstillet til 37 °C med 5 % $_{CO2,}$ og skift mediet hver 2.-3. dag.
Split ratio	1 til 5

HEK293-CTLA4-celler | 305423

Seeding density	2 til 4 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
Post-Thaw Recovery	Efter optøning deles cellerne i forholdet 1:2 til 1:3 i T25-kolber, og cellerne får lov til at komme sig over fryseprocessen og klæbe (for klæbende kulturer) i mindst 24 timer.
Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

HEK293-CTLA4-celler | 305423

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befugtet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Shipping Conditions	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Storage Conditions	For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility	Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.