Product sheet

HEK293-CTLA4-Zellen | 305423

Allgemeine Informationen

Description	**Haftungsausschluss: Die für Zelllinien angegebenen Preise gelten ausschließlich für akademische/gemeinnützige Kunden. Für kommerzielle Einrichtungen beträgt der Preis ca. 6.250 €. Wenn Sie eine kommerzielle Einrichtung vertreten oder sich nicht sicher sind, welche Kategorie auf Sie zutrifft, wenden Sie sich bitte an uns.** Die HEK293-CTLA4-Zelllinie ist eine stabile rekombinante HEK293-Zelllinie, die so entwickelt wurde, dass sie den CTLA4-Rezeptor in mittlerer bis niedriger Konzentration exprimiert, etwa 4.000 Moleküle pro Zelle. Diese Zelllinie wurde unter Verwendung der Landing-Pad-Technologie von inscreenex entwickelt, wodurch eine präzise und reproduzierbare Integration des CTLA4-Gens an einem spezifischen, vorab validierten genomischen Locus gewährleistet ist. CTLA4, auch bekannt als CD152, ist ein Immun-Checkpoint-Protein, das eine entscheidende Rolle bei der Regulierung der T-Zell-Aktivierung spielt. Indem es mit dem stimulierenden Rezeptor CD28 um die Bindung an B7-Moleküle (CD80 und CD86) auf Antigen-präsentierenden Zellen konkurriert, dämpft CTLA4 Immunantworten, wodurch die Selbsttoleranz aufrechterhalten und Autoimmunität verhindert wird. CTLA4 ist ein zentrales Ziel in der Krebsimmuntherapie, insbesondere für Medikamente wie Ipilimumab, die darauf abzielen, die Antitumorimmunität durch Blockierung dieses Checkpoints und Aktivierung von T-Zellen zu verstärken. Die Expression von CTLA4 in dieser Zelllinie wurde mittels Durchflusszytometrie mit einem zielspezifischen Antikörper bestätigt, wodurch eine zuverlässige und konsistente Rezeptordichte über die gesamte Zellpopulation hinweg gewährleistet wurde.
Organism	Menschen
Tissue	Fötale Niere
Disease	Transformiert/immunisiert; nicht tumorogen (HEK293-Hintergrund)
Applications	Forschung zu Checkpoint-Inhibitoren; Entwicklung von Antikörpern gegen CTLA-4 (Ipilimumab, Tremelimumab-Analoga); T-Zell-Kostimulationsassays; Screening im Bereich der Immunonkologie; Entwicklung bispezifischer Antikörper

Merkmale

Age	Fötus
Gender	Weiblich
Morphology	Epithelähnlich
Cell type	Epithelzellen

HEK293-CTLA4-Zellen | 305423

Growth properties	Monolayer, haftend

Regulatorische Daten

Citation	HEK293-CTLA4 (Cytion-Katalognummer 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GVO-S1: Diese HEK293-Variante enthält ein CTLA-4-Expressionskonstrukt für die Immun-Checkpoint-Forschung. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Handhabung

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion-Artikelnummer 820700a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10 % FBS, 1 mM Natriumpyruvat, 10 mM HEPES, 1 % NEAA. Geneticin (G418-Sulfat) hinzufügen, um eine Endkonzentration von 1 mg/ml zu erreichen.
Dissociation Reagent	Trypsin-EDTA
Doubling time	ca. 24–36 Stunden

HEK293-CTLA4-Zellen | 305423

Subculturing	Für die routinemäßige adhärente Zellkultur: Saugen Sie das alte Kulturmedium von den adhärenten Zellen ab und waschen Sie sie mit PBS, um das restliche Medium zu entfernen. Nach dem Absaugen des PBS die entsprechende Menge Trypsin/EDTA-Lösung je nach Größe des Kulturgefäßes zugeben (z. B. 1 ml für einen T25-Kolben, 3 ml für einen T75-Kolben) und bei Raumtemperatur oder 37 °C inkubieren, bis sich die Zellen ablösen (5-10 Minuten). Überwachen Sie die Ablösung unter dem Mikroskop und klopfen Sie bei Bedarf vorsichtig auf das Gefäß, um die Zellen freizusetzen. Sobald sich die Zellen abgelöst haben, fügen Sie vollständiges Medium hinzu, um das Trypsin/EDTA zu inaktivieren, resuspendieren Sie die Zellen vorsichtig und transferieren Sie einen aliquoten Teil der Zellsuspension in ein neues Kulturgefäß mit frischem Medium. Stellen Sie das Gefäß in einen auf 37°C und 5%$_{CO2}$ eingestellten Inkubator und wechseln Sie das Medium alle 2-3 Tage.
Split ratio	1 bis 5
Seeding density	2 bis 4 x 10^4 Zellen/cm^2
Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche
Post-Thaw Recovery	Nach dem Auftauen die Zellen im Verhältnis 1:2 bis 1:3 in T25-Kolben aufteilen und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und anhaften lassen (bei adhärenten Kulturen).
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

HEK293-CTLA4-Zellen | 305423

Thawing and Culturing Cells	1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten. 2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist. 3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt. 4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol. 5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen. 6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. 7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern. 8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

HEK293-CTLA4-Zellen | 305423

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.