Product sheet

Κύτταρα HEK293-CTLA4 | 305423

Γενικές πληροφορίες

Description	**Αποποίηση ευθυνών: Οι τιμές που εμφανίζονται για τις κυτταρικές γραμμές είναι αποκλειστικά για μη κερδοσκοπικούς πελάτες. Εάν εκπροσωπείτε εμπορική οντότητα, παρακαλούμε επικοινωνήστε μαζί μας για εναλλακτικές τιμές.** Η κυτταρική σειρά HEK293-CTLA4 είναι μια σταθερή ανασυνδυασμένη κυτταρική σειρά HEK293, η οποία έχει σχεδιαστεί για να εκφράζει τον υποδοχέα CTLA4 σε μεσαίο-χαμηλό επίπεδο, περίπου 4.000 μόρια ανά κύτταρο. Αυτή η κυτταρική σειρά αναπτύχθηκε με τη χρήση της τεχνολογίας landing pad της inscreenex, εξασφαλίζοντας την ακριβή και αναπαραγώγιμη ενσωμάτωση του γονιδίου CTLA4 σε συγκεκριμένο, προ-επιβεβαιωμένο γονιδιωματικό τόπο. Η CTLA4, επίσης γνωστή ως CD152, είναι μια πρωτεΐνη σημείου ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος που διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση της ενεργοποίησης των Τ-κυττάρων. Ανταγωνιζόμενη τον διεγερτικό υποδοχέα CD28 για τη σύνδεση με τα μόρια B7 (CD80 και CD86) στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, η CTLA4 ρυθμίζει τις ανοσολογικές αποκρίσεις, διατηρώντας έτσι την αυτοανοχή και αποτρέποντας την αυτοανοσία. Το CTLA4 αποτελεί βασικό στόχο στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου, ιδίως για φάρμακα όπως το ipilimumab, τα οποία αποσκοπούν στην ενίσχυση της ανοσίας κατά του όγκου με τον αποκλεισμό αυτού του σημείου ελέγχου και την ενεργοποίηση των Τ κυττάρων. Η έκφραση του CTLA4 σε αυτή την κυτταρική σειρά επιβεβαιώθηκε με τη χρήση κυτταρομετρίας ροής με ένα ειδικό για τον στόχο αντίσωμα, εξασφαλίζοντας αξιόπιστη και σταθερή πυκνότητα υποδοχέα σε όλο τον κυτταρικό πληθυσμό.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Εμβρυϊκός νεφρός

Χαρακτηριστικά

Age	Έμβρυο
Gender	Γυναίκα
Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HEK293-CTLA4 (αριθμός καταλόγου Cytion 305423)
Biosafety level	1

Κύτταρα HEK293-CTLA4 | 305423

NCBI_TaxID	9606
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η παραλλαγή HEK293 περιέχει μια κατασκευή έκφρασης CTLA-4 για την έρευνα των σημείων ανοσολογικού ελέγχου. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 1 mM πυρουβικό νάτριο, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Προσθέστε Geneticin (G418-Sulfat) για να επιτευχθεί τελική συγκέντρωση 1 mg/mL.
Dissociation Reagent	Τρυψίνη-EDTA
Subculturing	Για συνήθη καλλιέργεια προσκολλημένων κυττάρων: Αναρροφήστε το παλιό μέσο καλλιέργειας από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS για να απομακρύνετε τυχόν εναπομείναν μέσο. Αφού αναρροφήσετε το PBS, προσθέστε τον κατάλληλο όγκο διαλύματος Trypsin/EDTA με βάση το μέγεθος του δοχείου καλλιέργειας (π.χ. 1 ml για φιάλη T25, 3 ml για φιάλη T75) και επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου ή 37°C έως ότου αποκολληθούν τα κύτταρα (5-10 λεπτά). Παρακολουθήστε την αποκόλληση στο μικροσκόπιο και χτυπήστε απαλά το δοχείο εάν είναι απαραίτητο για να απελευθερώσετε τα κύτταρα. Αφού αποκολληθούν, προσθέστε πλήρες μέσο για να αδρανοποιήσετε την Τρυψίνη/EDTA, ανασυσσωματώστε απαλά τα κύτταρα και μεταφέρετε μια εκατοστιαία ποσότητα του εναιωρήματος των κυττάρων σε ένα νέο δοχείο καλλιέργειας που περιέχει φρέσκο μέσο. Τοποθετήστε το δοχείο σε επωαστήρα ρυθμισμένο στους 37°C με 5% $_{CO2}$ και αλλάζετε το μέσο κάθε 2-3 ημέρες.
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, χωρίστε τα κύτταρα σε αναλογία 1:2 έως 1:3 σε φιάλες T25 και αφήστε τα κύτταρα να ανακάμψουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες. Για καλύτερη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη των κυττάρων, συνιστούμε τη χρήση φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου για την αρχική σπορά μετά την κρυοανάκτηση. Η επίστρωση κολλαγόνου δεν απαιτείται για την επακόλουθη συνήθη καλλιέργεια των κυττάρων.

Κύτταρα HEK293-CTLA4 | 305423

Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Κύτταρα HEK293-CTLA4 | 305423

Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.