Product sheet

HEK293-CTLA4 rakud | 305423

Üldine teave

Description	**Vastutusest loobumine: Rakuliinide juures näidatud hinnad kehtivad ainult akadeemilistele ja mittetulunduslikele klientidele. Äriühingute puhul on hind ligikaudu 6250 eurot.** **Kui esindate äriühingut või ei ole kindel, milline kategooria teie puhul kehtib, palun võtke meiega ühendust.** HEK293-CTLA4 rakuliin on stabiilne rekombinantne HEK293 rakuliin, mis on loodud ekspresseerima CTLA4 retseptorit keskmisel-madalal tasemel, umbes 4000 molekuli raku kohta. See rakuliin on arendatud inscreenexi landing pad tehnoloogia abil, mis tagab CTLA4 geeni täpse ja reprodutseeritava integratsiooni spetsiifilisse, eelnevalt valideeritud genoomilokussesse. CTLA4, tuntud ka kui CD152, on immuunkontrollpunkti valk, mis mängib olulist rolli T-rakkude aktiveerimise reguleerimisel. Konkureerides stimuleeriva retseptori CD28-ga seondumisel antigeene esitavate rakkude B7-molekulidega (CD80 ja CD86), vähendab CTLA4 immuunvastust, säilitades seeläbi enesetolerantsust ja ennetades autoimmuunsust. CTLA4 on võtmetähtsusega sihtmärk vähki ravivas immunoteraapias, eriti selliste ravimite puhul nagu ipilimumab, mille eesmärk on tugevdada kasvajavastast immuunsust, blokeerides seda kontrollpunkti ja aktiveerides T-rakke. CTLA4 ekspressiooni selles rakuliinis kinnitati voolutsütomeetria abil sihtmärgispetsiifilise antikehaga, tagades usaldusväärse ja ühtlase retseptori tiheduse kogu rakupopulatsioonis.
Organism	Inimene
Tissue	Loote neerud
Disease	Muundatud/immortaliseeritud; ei põhjusta kasvajate teket (HEK293-taust)
Applications	Kontrollpunkti inhibiitorite uurimine; CTLA4-le suunatud antikehade arendamine (ipilimumab, tremelimumabi analoogid); T-rakkude kostimulatsiooni analüüsid; immunoonkoloogiline sõelumine; bispetsiifiliste antikehade konstrueerimine

Omadused

Age	Loote
Gender	Naised
Morphology	Epiteelilaadsed
Cell type	Epiteelirakud
Growth properties	Monokihiline, kleepuv

Product sheet

HEK293-CTLA4 rakud | 305423

Regulatiivsed andmed

Citation	HEK293-CTLA4 (Cytioni kataloginumber 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GMO-S1: See HEK293 variant sisaldab CTLA-4 ekspressioonikonstruktsiooni immuunsüsteemi kontrollpunktide uurimiseks. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendage keskkonda 10% FBS-iga, 1 mM naatriumpüruvaadiga, 10 mM HEPES-iga, 1% NEAA-ga. Lisage geneetilistiini (G418-Sulfat), et saavutada lõplik kontsentratsioon 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Trypsin-EDTA
Doubling time	u. 24–36 tundi
Subculturing	Rutiinseks adherentseks rakukultuuriks: Aspireerige adhereeruvatelt rakkudelt vana kultuurkeskkond ja peske neid PBS-ga, et eemaldada allesjäänud keskkond. Pärast PBS-i aspiratsiooni lisage sobiv kogus trüpsiini/EDTA lahust vastavalt kasvatusanuma suurusele (nt 1 ml T25 kolvi puhul, 3 ml T75 kolvi puhul) ja inkubeerige toatemperatuuril või 37 °C, kuni rakud eralduvad (5-10 minutit). Jälgige rakkude eraldumist mikroskoobi all ja koputage vajadusel õrnalt anumat, et rakud eralduksid. Kui rakud on eraldunud, lisage trüpsiini/EDTA inaktiveerimiseks täielikku söötmeainet, suspenseerige rakud ettevaatlikult uuesti ja kandke rakususpensiooni alikvoot uude, värsket söötmeainet sisaldavasse kasvatusanumasse. Asetage anum inkubaatorisse, mille temperatuur on 37 °C ja 5% $_{CO2}$, ning vahetage söötme iga 2-3 päeva tagant.
Split ratio	1–5

HEK293-CTLA4 rakud | 305423

Seeding density	2 kuni 4 x 10^4 rakku/cm^2
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist jagage rakud 1:2 kuni 1:3 T25 kolvidesse ja laske rakkudel taastuda külmumisprotsessist ja adhereeruda (adhereeruvate kultuuride puhul) vähemalt 24 tundi.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataolooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.
Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp. 4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga. 5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu. 8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.

HEK293-CTLA4 rakud | 305423

Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.