Product sheet

HEK293-CTLA4-solut | 305423

Yleisiä tietoja

Description	**Vastuuvapauslauseke: Solulinjojen hinnat koskevat yksinomaan akateemisia ja voittoa tavoittelemattomia asiakkaita. Kaupallisille toimijoille hinta on noin 6 250 euroa.** **Jos edustat kaupallista toimijaa tai et ole varma, mihin ryhmään kuulut, ota yhteyttä meihin.** HEK293-CTLA4-solulinja on vakaa rekombinantti HEK293-solulinja, joka on muokattu ilmentämään CTLA4-reseptoria keskitasoisella tai matalalla tasolla, noin 4 000 molekyyliä solua kohti. Tämä solulinja on kehitetty käyttämällä inscreenexin landing pad -tekniikkaa, joka takaa CTLA4-geenin tarkan ja toistettavan integroinnin tiettyyn, ennalta validoituun genomin lokukseen. CTLA4, joka tunnetaan myös nimellä CD152, on immuunivalvontapisteproteiini, jolla on keskeinen rooli T-solujen aktivaation säätelyssä. Kilpailemalla stimuloivan reseptorin CD28:n kanssa sitoutumisesta antigeenejä esittelevien solujen B7-molekyyleihin (CD80 ja CD86), CTLA4 hillitsee immuunivasteita, ylläpitäen siten itsesietokykyä ja estäen autoimmuunireaktioita. CTLA4 on keskeinen kohde syövän immunoterapiassa, erityisesti ipilimumabin kaltaisissa lääkkeissä, joiden tavoitteena on tehostaa kasvaimen vastaista immuniteettia estämällä tämä tarkistuspiste ja aktivoimalla T-soluja. CTLA4:n ilmentyminen tässä solulinjassa vahvistettiin virtaussytometrian avulla kohdekohtaisella vasta-aineella, mikä takasi luotettavan ja yhdenmukaisen reseptoritiheyden koko solupopulaatiossa.
Organism	Ihminen
Tissue	Sikiön munuaiset
Disease	Muunnettu/ikuisesti elävä; ei aiheuta kasvaimia (HEK293-tausta)
Applications	Tarkistuspisteinhibiittoreiden tutkimus; CTLA4:ään kohdistuvien vasta-aineiden kehittäminen (ipilimumabi, tremelimumabin analogit); T-solujen kostimulaatiomääritykset; immuno-onkologinen seulonta; bispesifisten vasta-aineiden suunnittelu

Ominaisuudet

Age	Sikiö
Gender	Nainen
Morphology	Epiteelin kaltainen
Cell type	Epiteelisolut
Growth properties	Yksikerroksinen, tarttuva

HEK293-CTLA4-solut | 305423

Sääntelytiedot

Citation	HEK293-CTLA4 (Cytionin luettelonumero 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GMO-S1: Tämä HEK293-variantti sisältää CTLA-4-ekspressiokonstruktion immuunijärjestelmän tarkistuspisteiden tutkimusta varten. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyylitiedot

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennä elatusainetta 10 % FBS:llä, 1 mM natriumpyruvaatilla, 10 mM HEPES:llä, 1 % NEAA:lla. Lisää genetiinejä (G418-Sulfat), jotta lopullinen pitoisuus on 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Trypsin-EDTA
Doubling time	noin 24–36 tuntia
Subculturing	Rutiininomaiseen adherenttiseen soluviljelyyn: Imeytä vanha elatusaine adheesiosoluista ja pese ne PBS:llä jäljellä olevan elatusaineen poistamiseksi. Kun PBS on imetty, lisätään sopiva määrä trypsiini/EDTA-liuosta viljelyastian koon mukaan (esim. 1 ml T25-pulloon, 3 ml T75-pulloon) ja inkuboidaan huoneenlämmössä tai 37 °C:ssa, kunnes solut irtoavat (5-10 minuuttia). Seuraa irtoamista mikroskoopilla ja napauta astiaa tarvittaessa varovasti solujen irrottamiseksi. Kun solut ovat irronneet, lisätään täyttä elatusainetta trypsiinin/EDTA:n inaktivoimiseksi, solut suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensiosta aliquota uuteen kasvatusastiaan, joka sisältää tuoretta elatusainetta. Aseta astia inkubaattoriin, jonka lämpötila on 37 °C ja hiilidioksidipitoisuus 5 %, ja vaihda väliaine 2-3 päivän välein.
Split ratio	1–5

HEK293-CTLA4-solut | 305423

Seeding density	2–4 x 10^4 solua/cm^2
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen solut jaetaan T25-pulloihin suhteessa 1:2 tai 1:3 ja annetaan solujen toipua pakastuksesta ja adheesiota (adheesioviljelmien osalta) vähintään 24 tuntia.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

HEK293-CTLA4-solut | 305423

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 %$_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.