Product sheet

Cellules HEK293-CTLA4 | 305423

Informations générales

Description	**Avertissement : les prix indiqués pour les lignées cellulaires s'adressent exclusivement aux clients universitaires ou à but non lucratif. Pour les entités commerciales, le prix est d'environ 6 250 €.** **Si vous représentez une entité commerciale ou si vous ne savez pas à quelle catégorie vous appartenez, veuillez nous contacter.** La lignée cellulaire HEK293-CTLA4 est une lignée cellulaire HEK293 recombinante stable, conçue pour exprimer le récepteur CTLA4 à un niveau moyen-faible, soit environ 4 000 molécules par cellule. Cette lignée cellulaire a été développée à l'aide de la technologie « landing pad » d'inscreenex, garantissant une intégration précise et reproductible du gène CTLA4 à un locus génomique spécifique et pré-validé. Le CTLA4, également connu sous le nom de CD152, est une protéine de point de contrôle immunitaire qui joue un rôle crucial dans la régulation de l'activation des lymphocytes T. En entrant en compétition avec le récepteur stimulateur CD28 pour la liaison aux molécules B7 (CD80 et CD86) sur les cellules présentatrices d'antigènes, le CTLA4 régule à la baisse les réponses immunitaires, maintenant ainsi l'autotolérance et prévenant l'auto-immunité. Le CTLA4 est une cible clé dans l'immunothérapie du cancer, en particulier pour des médicaments comme l'ipilimumab, qui visent à renforcer l'immunité antitumorale en bloquant ce point de contrôle et en activant les lymphocytes T. L'expression de CTLA4 dans cette lignée cellulaire a été confirmée par cytométrie en flux à l'aide d'un anticorps spécifique de la cible, garantissant une densité de récepteurs fiable et homogène dans l'ensemble de la population cellulaire.
Organism	Humain
Tissue	Rein fœtal
Disease	Transformé/immortalisé ; non tumorigène (lignée HEK293)
Applications	Recherche sur les inhibiteurs de points de contrôle ; développement d'anticorps ciblant le CTLA-4 (ipilimumab, analogues du tremelimumab) ; tests de co-stimulation des lymphocytes T ; criblage en immuno-oncologie ; ingénierie des anticorps bispécifiques

Caractéristiques

Age	Fœtus
Gender	Femme
Morphology	De type épithélial
Cell type	Cellules épithéliales

Cellules HEK293-CTLA4 | 305423

Growth properties	Monocouche, adhérente

Données réglementaires

Citation	HEK293-CTLA4 (numéro de catalogue 305423 de Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	OGM-S1 : Cette variante HEK293 contient une construction d'expression de CTLA-4 pour la recherche sur les points de contrôle immunitaires. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut différer dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO3 (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10 % de FBS, 1 mM de pyruvate de sodium, 10 mM de HEPES, 1 % de NEAA. Ajouter de la généticine (G418-Sulfat) pour obtenir une concentration finale de 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Trypsine-EDTA
Doubling time	environ 24 à 36 heures

Cellules HEK293-CTLA4 | 305423

Subculturing	Pour la culture de routine de cellules adhérentes : Aspirer l'ancien milieu de culture des cellules adhérentes et les laver avec du PBS pour éliminer tout milieu restant. Après avoir aspiré le PBS, ajouter le volume approprié de solution de Trypsine/EDTA en fonction de la taille du récipient de culture (par exemple, 1 ml pour un flacon T25, 3 ml pour un flacon T75) et incuber à température ambiante ou à 37°C jusqu'à ce que les cellules se détachent (5-10 minutes). Surveiller le détachement au microscope et tapoter doucement le récipient si nécessaire pour libérer les cellules. Une fois les cellules détachées, ajouter du milieu complet pour inactiver la trypsine/EDTA, remettre doucement les cellules en suspension et transférer une aliquote de la suspension cellulaire dans un nouveau récipient de culture contenant du milieu frais. Placer le récipient dans un incubateur réglé à 37°C avec 5% de $_{CO2}$, et changer le milieu tous les 2-3 jours.
Split ratio	1 à 5
Seeding density	2 à 4 x 10^4 cellules/cm^2
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Après décongélation, diviser les cellules dans un rapport de 1:2 à 1:3 dans des flacons T25 et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer (pour les cultures adhérentes) pendant au moins 24 heures.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Cellules HEK293-CTLA4 | 305423

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules HEK293-CTLA4 | 305423

Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence. Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.