Product sheet

HEK293-CTLA4 sejtek | 305423

Általános információk

Description	**Jogi nyilatkozat: A sejtvonalak mellett feltüntetett árak kizárólag tudományos/nonprofit ügyfelekre vonatkoznak. Kereskedelmi szervezetek esetében az ár körülbelül 6 250 euró.** **Ha kereskedelmi szervezetet képvisel, vagy nem biztos abban, melyik kategória vonatkozik Önre, kérjük, vegye fel velünk a kapcsolatot.** A HEK293-CTLA4 sejtvonal egy stabil, rekombináns HEK293 sejtvonal, amelyet úgy alakítottak ki, hogy közepes-alacsony szinten, sejtenként körülbelül 4000 molekulával fejezze ki a CTLA4 receptort. Ezt a sejtvonalat az inscreenex landing pad technológiájával fejlesztették ki, amely biztosítja a CTLA4 gén pontos és reprodukálható integrációját egy specifikus, előzetesen validált genomikus lókuszba. A CTLA4, más néven CD152, egy immunellenőrző pont fehérje, amely döntő szerepet játszik a T-sejtek aktiválásának szabályozásában. A CTLA4 az antigént prezentáló sejteken található B7 molekulákhoz (CD80 és CD86) való kötődésért versengve a stimuláló CD28 receptorral, lecsökkenti az immunválaszokat, ezáltal fenntartva az öntoleranciát és megelőzve az autoimmunitást. A CTLA4 a rák immunterápiájának kulcsfontosságú célpontja, különösen olyan gyógyszerek esetében, mint az ipilimumab, amelyek célja a tumorellenes immunitás fokozása e kontrollpont blokkolásával és a T-sejtek aktiválásával. A CTLA4 expresszióját ebben a sejtvonalban célspecifikus antitesttel végzett áramlási citometriával igazolták, biztosítva a sejtpopulációban a receptorok megbízható és konzisztens sűrűségét.
Organism	Emberi
Tissue	Magzati vese
Disease	Átalakított/halhatatlanná tett; nem tumorigenikus (HEK293 háttér)
Applications	Az ellenőrzőpont-gátlók kutatása; a CTLA-4-et célzó antitestek fejlesztése (ipilimumab, tremelimumab-analógok); T-sejt-ko-stimulációs vizsgálatok; immuno-onkológiai szűrés; bispecifikus antitestek tervezése

Jellemzők

Age	Magzat
Gender	Női
Morphology	Epithelszerű
Cell type	Epithel sejtek
Growth properties	Monoréteg, tapadó

HEK293-CTLA4 sejtek | 305423

Szabályozási adatok

Citation	HEK293-CTLA4 (Cytion katalógusszám: 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GMO-S1: Ez a HEK293 variáns egy CTLA-4 expressziós konstrukciót tartalmaz az immunellenőrzési pontok kutatásához. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 1 mM nátrium-piruváttal, 10 mM HEPES-szel, 1% NEAA-val. Adjunk hozzá Geneticint (G418-Sulfat), hogy a végső koncentráció 1 mg/ml legyen.
Dissociation Reagent	Trypsin-EDTA
Doubling time	kb. 24–36 óra
Subculturing	Rutinszerű adherens sejtkultúrához: Szívja le a régi táptalajt az adherens sejtekről, és mossa le őket PBS-szel a maradék táptalaj eltávolítása érdekében. A PBS leszívása után adjunk hozzá a tenyésztőedény méretének megfelelő mennyiségű tripszin/EDTA-oldatot (pl. 1 ml T25 lombikhoz, 3 ml T75 lombikhoz), és inkubáljuk szobahőmérsékleten vagy 37°C-on, amíg a sejtek leválnak (5-10 perc). Ellenőrizzük a leválást mikroszkóp alatt, és ha szükséges, óvatosan kopogtassuk meg az edényt a sejtek kiszabadításához. Ha a sejtek leváltak, adjunk hozzá teljes tápfolyadékot a tripszin/EDTA inaktiválásához, óvatosan szuszpendáljuk újra a sejteket, és a sejtszuszpenzió egy aliquotáját helyezzük át egy új, friss tápfolyadékot tartalmazó tenyésztőedénybe. Helyezze az edényt 37 °C-ra és 5%$_{CO2\text{-}ra}$ beállított inkubátorba, és 2-3 naponta cserélje a tápfolyadékot.
Split ratio	1–5

HEK293-CTLA4 sejtek | 305423

Seeding density	2–4 x 10^4 sejt/cm^2
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Post-Thaw Recovery	A felolvasztás után osszuk a sejteket 1:2-1:3 arányban T25 lombikokba, és hagyjuk, hogy a sejtek legalább 24 órán keresztül regenerálódjanak a fagyasztásból és megtapadjanak (adhezív kultúrák esetén).
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

HEK293-CTLA4 sejtek | 305423

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.
Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.