Product sheet

Cellule HEK293-CTLA4 | 305423

Informazioni generali

Description	**Avviso: I prezzi indicati per le linee cellulari sono riservati esclusivamente a clienti del settore accademico o senza scopo di lucro. Per le entità commerciali il prezzo è di circa 6.250 €.** **Se rappresenti un'entità commerciale o non sei sicuro di quale categoria ti riguardi, ti preghiamo di contattarci.** La linea cellulare HEK293-CTLA4 è una linea cellulare HEK293 ricombinante stabile, ingegnerizzata per esprimere il recettore CTLA4 a un livello medio-basso, circa 4.000 molecole per cellula. Questa linea cellulare è stata sviluppata utilizzando la tecnologia "landing pad" di inscreenex, che garantisce un'integrazione precisa e riproducibile del gene CTLA4 in un locus genomico specifico e pre-convalidato. Il CTLA4, noto anche come CD152, è una proteina di checkpoint immunitario che svolge un ruolo cruciale nella regolazione dell'attivazione delle cellule T. Competendo con il recettore stimolatorio CD28 per il legame con le molecole B7 (CD80 e CD86) sulle cellule presentanti l'antigene, il CTLA4 downregola le risposte immunitarie, mantenendo così l'autotolleranza e prevenendo l'autoimmunità. Il CTLA4 è un bersaglio chiave nell'immunoterapia contro il cancro, in particolare per farmaci come l'ipilimumab, che mirano a potenziare l'immunità antitumorale bloccando questo checkpoint e attivando i linfociti T. L'espressione di CTLA4 in questa linea cellulare è stata confermata mediante citometria a flusso con un anticorpo specifico per il bersaglio, garantendo una densità del recettore affidabile e costante in tutta la popolazione cellulare.
Organism	Umano
Tissue	Rene fetale
Disease	Trasformato/immortalizzato; non tumorigenico (linea cellulare HEK293)
Applications	Ricerca sugli inibitori dei checkpoint; sviluppo di anticorpi mirati al CTLA-4 (ipilimumab, analoghi del tremelimumab); test di costimolazione dei linfociti T; screening immuno-oncologico; ingegneria degli anticorpi bispecifici

Caratteristiche

Age	Feto
Gender	Donna
Morphology	Simile all'epitelio
Cell type	Cellule epiteliali

Cellule HEK293-CTLA4 | 305423

Growth properties	Monostrato, aderente

Dati normativi

Citation	HEK293-CTLA4 (catalogo Cytion numero 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GMO-S1: Questa variante HEK293 contiene un costrutto per l'espressione di CTLA-4 per la ricerca sui checkpoint immunitari. Questa classificazione si applica solo in Germania e può variare altrove.

Dati biomolecolari

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Manipolazione

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO3 (articolo Cytion numero 820700a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 1 mM sodio piruvato, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Aggiungere Geneticina (G418-Sulfat) per ottenere una concentrazione finale di 1 mg/mL.
Dissociation Reagent	Tripsina-EDTA
Doubling time	circa 24-36 ore
Subculturing	Per la coltura di routine di cellule aderenti: Aspirare il vecchio terreno di coltura dalle cellule aderenti e lavarle con PBS per rimuovere il terreno residuo. Dopo aver aspirato il PBS, aggiungere il volume appropriato di soluzione di tripsina/EDTA in base alle dimensioni del recipiente di coltura (ad esempio, 1 ml per una fiasca T25, 3 ml per una fiasca T75) e incubare a temperatura ambiente o a 37°C fino al distacco delle cellule (5-10 minuti). Monitorare il distacco al microscopio e, se necessario, picchiettare delicatamente il contenitore per liberare le cellule. Una volta staccate, aggiungere terreno completo per inattivare la tripsina/EDTA, risospendere delicatamente le cellule e trasferire un'aliquota della sospensione cellulare in un nuovo recipiente di coltura contenente terreno fresco. Porre il recipiente in un incubatore a 37°C con il 5% di $_{CO2}$ e cambiare il terreno ogni 2-3 giorni.

Cellule HEK293-CTLA4 | 305423

Split ratio	Da 1 a 5
Seeding density	Da 2 a 4 x $10^{4\ cellule}/cm^2$
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
Post-Thaw Recovery	Dopo lo scongelamento, dividere le cellule in un rapporto da 1:2 a 1:3 in fiasche T25 e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano (per le colture aderenti) per almeno 24 ore.
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Cellule HEK293-CTLA4 | 305423

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.
Flask Coating	Nessuno
Freezing Procedure	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Shipping Conditions	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility	La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza. Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.