Product sheet

HEK293-CTLA4 ląstelės | 305423

Bendra informacija

Description	**Atsakomybės apribojimas: Nurodytos ląstelių linijų kainos taikomos tik akademiniams ir nekomerciniams klientams. Komercinėms įmonėms kaina yra apie 6 250 eurų.** **Jei atstovaujate komercinei įmonei arba nesate tikri, kuri kategorija jums taikoma, prašome susisiekti su mumis.** HEK293-CTLA4 ląstelių linija yra stabili rekombinantinė HEK293 ląstelių linija, sukurta taip, kad išreikštų CTLA4 receptorių vidutiniu-žemu lygiu, maždaug 4 000 molekulių vienoje ląstelėje. Ši ląstelių linija buvo sukurta naudojant „inscreenex“ „landing pad“ technologiją, užtikrinančią tikslų ir atkartojamą CTLA4 geno integravimą į konkretų, iš anksto patvirtintą genomo lokusą. CTLA4, taip pat žinomas kaip CD152, yra imuninio kontrolės punkto baltymas, atliekantis lemiamą vaidmenį reguliuojant T ląstelių aktyvaciją. Konkuruodamas su stimuliuojančiu receptoriumi CD28 dėl prisijungimo prie B7 molekulių (CD80 ir CD86) ant antigeną pateikiančių ląstelių, CTLA4 slopina imuninius atsakus, taip išlaikydamas savitolerancijją ir užkirsdamas kelią autoimunitetui. CTLA4 yra pagrindinis taikinys vėžio imunoterapijoje, ypač tokiems vaistams kaip ipilimumabas, kurių tikslas – sustiprinti priešnavikinį imunitetą, blokuojant šį kontrolės punktą ir aktyvuojant T ląsteles. CTLA4 ekspresija šioje ląstelių linijoje buvo patvirtinta naudojant srauto citometriją su tiksliniais antikūnais, užtikrinant patikimą ir nuoseklų receptorių tankį visoje ląstelių populiacijoje.
Organism	Žmogus
Tissue	Vaisiaus inkstai
Disease	Transformuotas/imortalizuotas; nesukelia navikų (HEK293 fonas)
Applications	Tyrimai, susiję su kontrolės taškų inhibitoriais; CTLA-4 taikinį turinčių antikūnų kūrimas (ipilimumabo, tremelimumabo analogai); T ląstelių kostimuliacijos tyrimai; imunoonkologinis atranka; bispecifinių antikūnų inžinerija

Charakteristikos

Age	Vaisius
Gender	Moteris
Morphology	Į epitelį panašus
Cell type	Epitelio ląstelės
Growth properties	Viensluoksnis, prigludęs

HEK293-CTLA4 ląstelės | 305423

Reguliavimo duomenys

Citation	HEK293-CTLA4 (Cytion katalogo numeris 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GMO-S1: šiame HEK293 variante yra CTLA-4 raiškos konstruktas, skirtas imuninės kontrolės taškų tyrimams. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS, 1 mM natrio piruvatu, 10 mM HEPES, 1 % NEAA. Pridėkite geneticino (G418-Sulfat), kad galutinė koncentracija būtų 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Trypsino ir EDTA
Doubling time	maždaug 24–36 valandos
Subculturing	Įprastinėms adherentinėms ląstelių kultūroms: Kad pašalintumėte visą likusią terpę, iš adherentinių ląstelių išsiurbkite seną terpę ir nuplaukite jas PBS. Išsiurbę PBS, įpilkite reikiamą kiekį tripsino ir EDTA tirpalo, atsižvelgiant į kultūros indo dydį (pvz., 1 ml T25 kolbai, 3 ml T75 kolbai), ir inkubuokite kambario arba 37 °C temperatūroje, kol ląstelės atsiskirs (5-10 min.). Stebėkite atsiskyrimą per mikroskopą ir, jei reikia, švelniai palieskite indą, kad ląstelės išsilaisvintų. Kai ląstelės atsiskiria, įpilkite pilną terpę, kad būtų inaktyvuotas tripsinas/EDTA, atsargiai reuspenduokite ląsteles ir perkelkite alikvotą ląstelių suspensijos į naują auginimo indą su šviežia terpe. Įstatykite indą į inkubatorių, kuriame nustatyta 37 °C temperatūra ir 5 % $_{CO2}$, o terpę keiskite kas 2-3 dienas.
Split ratio	1–5

HEK293-CTLA4 ląstelės | 305423

Seeding density	2–4 x 10^4 ląstelės/cm^2
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Post-Thaw Recovery	Po atšildymo suskirstykite ląsteles santykiu 1:2-1:3 į T25 kolbas ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso bei sukibti (jei tai adherencinės kultūros) mažiausiai 24 valandas.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

HEK293-CTLA4 ląstelės | 305423

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.