Product sheet

HEK293-CTLA4 šūnas | 305423

Vispārīga informācija

Description	**Atbrīvojums no atbildības: Norādītās šūnu līniju cenas attiecas tikai uz akadēmiskajiem/bezpeļņas klientiem. Komerciālām organizācijām cena ir aptuveni 6250 eiro.** **Ja pārstāvat komerciālu organizāciju vai neesat pārliecināts, kura kategorija uz jums attiecas, lūdzu, sazinieties ar mums.** HEK293-CTLA4 šūnu līnija ir stabila rekombinanta HEK293 šūnu līnija, kas izstrādāta, lai ekspresētu CTLA4 receptoru vidēji zemā līmenī, aptuveni 4000 molekulu uz šūnu. Šī šūnu līnija tika izstrādāta, izmantojot inscreenex Landing Pad tehnoloģiju, kas nodrošina precīzu un reproducējamu CTLA4 gēna integrāciju specifiskā, iepriekš validētā genomiskā lokusā. CTLA4, pazīstams arī kā CD152, ir imūnsistēmas kontrolpunkta proteīns, kam ir izšķiroša loma T šūnu aktivācijas regulēšanā. Konkurējot ar stimulējošo receptoru CD28 par saistīšanos ar B7 molekulām (CD80 un CD86) uz antigēnu prezentējošajām šūnām, CTLA4 nomāc imūnreakcijas, tādējādi uzturot paštoleranci un novēršot autoimunitāti. CTLA4 ir galvenais mērķis vēža imūnterapijā, jo īpaši tādiem medikamentiem kā ipilimumabs, kuru mērķis ir pastiprināt pretvēža imunitāti, bloķējot šo kontrolpunktu un aktivizējot T šūnas. CTLA4 ekspresija šajā šūnu līnijā tika apstiprināta, izmantojot plūsmas citometriju ar mērķa specifisku antivielu, nodrošinot uzticamu un vienmērīgu receptoru blīvumu visā šūnu populācijā.
Organism	Cilvēks
Tissue	Augļa nieres
Disease	Pārveidots/imortalizēts; neizraisa audzēju veidošanos (HEK293 fons)
Applications	Pētījumi par kontrolpunktu inhibitoriem; CTLA4 mērķa antivielu izstrāde (ipilimumaba un tremelimumaba analogi); T šūnu kostimulācijas analīzes; imūnonkoloģiskā skrīninga; bispecifisko antivielu inženierija

Raksturojums

Age	Auglis
Gender	Sievietes
Morphology	Epitēlijveidīgs
Cell type	Epitēlija šūnas
Growth properties	Vienslāņa, adhēzija

HEK293-CTLA4 šūnas | 305423

Normatīvie dati

Citation	HEK293-CTLA4 (Cytion kataloga numurs 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GMO-S1: šis HEK293 variants satur CTLA-4 ekspresijas konstruktu imūnsistēmas kontrolpunktu pētījumiem. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildiniet barotni ar 10% FBS, 1 mM nātrija piruvātu, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Pievienojiet ģenētiķīnu (G418-Sulfat), lai sasniegtu galīgo koncentrāciju 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Tripsīns-EDTA
Doubling time	aptuveni 24–36 stundas
Subculturing	Parastai adherentu šūnu kultūrai: Lai noņemtu atlikušo barotni, aspirējiet veco barotni no pielipušajām šūnām un izskalojiet tās ar PBS, lai noņemtu atlikušo barotni. Pēc PBS atsūknēšanas pievienojiet atbilstošu tripsīna/EDTA šķīduma tilpumu atkarībā no kultūras trauka lieluma (piemēram, 1 ml T25 kolbai, 3 ml T75 kolbai) un inkubējiet istabas temperatūrā vai 37 °C, līdz šūnas atdalās (5-10 minūtes). Novērot atdalīšanos ar mikroskopu un, ja nepieciešams, viegli piesitiet trauku, lai atbrīvotu šūnas. Pēc atdalīšanās pievienot pilnu barotni, lai inaktivētu tripsīnu/EDTA, uzmanīgi resuspendēt šūnas un šūnu suspensijas alikvotu pārvietot jaunā barotnē ar svaigu barotni. Ievietot trauku inkubatorā, kas iestatīts 37 °C temperatūrā ar 5 % $_{CO2}$, un ik pēc 2-3 dienām mainīt barotni.
Split ratio	no 1 līdz 5

HEK293-CTLA4 šūnas | 305423

Seeding density	2 līdz 4 x 10^4 šūnas/cm^2
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas sadaliet šūnas T25 kolbās proporcijā 1:2 līdz 1:3 un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un salipt (adhēzijas kultūrām) vismaz 24 stundas.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

HEK293-CTLA4 šūnas | 305423

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.