Product sheet

HEK293-CTLA4-cellen | 305423

Algemene informatie

Description	**Disclaimer: De weergegeven prijzen voor cellijnen gelden uitsluitend voor academische klanten en klanten zonder winstoogmerk. Voor commerciële partijen bedraagt de prijs ongeveer € 6.250.** **Als u een commerciële partij vertegenwoordigt of niet zeker weet tot welke categorie u behoort, neem dan contact met ons op.** De HEK293-CTLA4-cellijn is een stabiele recombinante HEK293-cellijn die is gemanipuleerd om de CTLA4-receptor op een gemiddeld-laag niveau tot expressie te brengen, ongeveer 4.000 moleculen per cel. Deze cellijn is ontwikkeld met behulp van de landing pad-technologie van inscreenex, wat zorgt voor een nauwkeurige en reproduceerbare integratie van het CTLA4-gen op een specifieke, vooraf gevalideerde genomische locus. CTLA4, ook bekend als CD152, is een immuuncheckpoint-eiwit dat een cruciale rol speelt bij het reguleren van de activering van T-cellen. Door te concurreren met de stimulerende receptor CD28 om binding aan B7-moleculen (CD80 en CD86) op antigeenpresenterende cellen, remt CTLA4 immuunreacties, waardoor zelftolerantie wordt gehandhaafd en auto-immuniteit wordt voorkomen. CTLA4 is een belangrijk doelwit in immuuntherapie tegen kanker, met name voor geneesmiddelen zoals ipilimumab, die tot doel hebben de antitumorimmuniteit te versterken door dit controlepunt te blokkeren en T-cellen te activeren. De expressie van CTLA4 in deze cellijn werd bevestigd met behulp van flowcytometrie met een doelspecifiek antilichaam, waardoor een betrouwbare en consistente receptordichtheid in de gehele celpopulatie werd gewaarborgd.
Organism	Mens
Tissue	Foetale nier
Disease	Getransformeerd/vereeuwigd; niet-tumorogene (HEK293-achtergrond)
Applications	Onderzoek naar checkpointremmers; ontwikkeling van antilichamen gericht tegen CTLA-4 (ipilimumab, analogen van tremelimumab); co-stimulatieproeven met T-cellen; screening op het gebied van immuno-oncologie; ontwerp van bispecifieke antilichamen

Kenmerken

Age	Foetus
Gender	Vrouw
Morphology	Epitheelachtig
Cell type	Epitheelcellen

HEK293-CTLA4-cellen | 305423

Growth properties	Monolaag, adherent

Regelgevende gegevens

Citation	HEK293-CTLA4 (Cytion catalogusnummer 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GMO-S1: Deze HEK293-variant bevat een CTLA-4 expressieconstruct voor onderzoek naar immuuncheckpoints. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Omgaan met

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS, 1 mM natriumpyruvaat, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Voeg Geneticine (G418-Sulfat) toe tot een eindconcentratie van 1 mg/mL.
Dissociation Reagent	Trypsine-EDTA
Doubling time	ongeveer 24-36 uur
Subculturing	Voor routinematige adherente celkweek: Zuig het oude kweekmedium van de adherente cellen af en was ze met PBS om eventueel achtergebleven medium te verwijderen. Voeg na het opzuigen van de PBS het juiste volume trypsine/EDTA-oplossing toe op basis van de grootte van het kweekvat (bijv. 1 ml voor een T25-kolf, 3 ml voor een T75-kolf) en incubeer bij kamertemperatuur of 37 °C totdat de cellen loskomen (5-10 minuten). Controleer de onthechting onder een microscoop en tik zo nodig voorzichtig op het vat om de cellen los te maken. Voeg na het losmaken volledig medium toe om de trypsine/EDTA te inactiveren, resuspendeer de cellen voorzichtig en breng een aliquot van de celsuspensie over in een nieuw kweekvat met vers medium. Plaats het kweekvat in een incubator die is ingesteld op 37°C met 5% $_{CO2}$ en ververs het medium elke 2-3 dagen.

HEK293-CTLA4-cellen | 305423

Split ratio	1 tot en met 5
Seeding density	2 tot 4 x 10^4 cellen/cm^2
Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
Post-Thaw Recovery	Splits de cellen na het ontdooien in een verhouding van 1:2 tot 1:3 in T25-flesjes en laat de cellen minstens 24 uur bijkomen van het vriesproces en zich hechten (voor adherente culturen).
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.
Thawing and Culturing Cells	1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden. 2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is. 3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft. 4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend. 5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig. 6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg. 7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen. 8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.
Flask Coating	Geen
Freezing Procedure	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.
Shipping Conditions	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.
Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.