Product sheet

HEK293-CTLA4-celler | 305423

Generell informasjon

Description	**Ansvarsfraskrivelse: Prisene som vises for cellelinjer gjelder utelukkende for akademiske kunder og ideelle organisasjoner. For kommersielle aktører er prisen ca. 6 250 euro.** **Hvis du representerer en kommersiell aktør eller er usikker på hvilken kategori som gjelder, vennligst kontakt oss.** HEK293-CTLA4-cellelinjen er en stabil rekombinant HEK293-cellelinje som er utviklet for å uttrykke CTLA4-reseptoren på et middels-lavt nivå, ca. 4 000 molekyler per celle. Denne cellelinjen ble utviklet ved hjelp av inscreenex' landing pad-teknologi, som sikrer presis og reproduserbar integrering av CTLA4-genet på et spesifikt, forhåndsvaliderte genomisk lokus. CTLA4, også kjent som CD152, er et immun-sjekkpunktprotein som spiller en avgjørende rolle i reguleringen av T-celleaktivering. Ved å konkurrere med den stimulerende reseptoren CD28 om binding til B7-molekyler (CD80 og CD86) på antigenpresenterende celler, nedregulerer CTLA4 immunresponser, og opprettholder dermed selvtoleranse og forhindrer autoimmunitet. CTLA4 er et sentralt mål i kreftimmunoterapi, særlig for legemidler som ipilimumab, som har som mål å styrke antitumorimmuniteten ved å blokkere dette kontrollpunktet og aktivere T-celler. Ekspresjonen av CTLA4 i denne cellelinjen ble bekreftet ved hjelp av strømningscytometri med et målspesifikt antistoff, noe som sikrer pålitelig og konsistent reseptortetthet i hele cellepopulasjonen.
Organism	Menneskelig
Tissue	Fosterets nyre
Disease	Transformert/immortaliseret; ikke-tumorogen (HEK293-bakgrunn)
Applications	Forskning på kontrollpunktinhibitorer; utvikling av antistoffer rettet mot CTLA-4 (ipilimumab, tremelimumab-analoger); analyser av T-celle-kostimulering; screening innen immunonkologi; utvikling av bispesifikke antistoffer

Kjennetegn

Age	Foster
Gender	Kvinne
Morphology	Epitel-lignende
Cell type	Epitelceller
Growth properties	Monolag, vedheftende

HEK293-CTLA4-celler | 305423

Regulatoriske data

Citation	HEK293-CTLA4 (Cytion katalognummer 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GMO-S1: Denne HEK293-varianten inneholder en CTLA-4-ekspresjonskonstruksjon for forskning på immunsjekkpunkter. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikkelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS, 1 mM natriumpyruvat, 10 mM HEPES, 1 % NEAA. Tilsett Geneticin (G418-Sulfat) for å oppnå en sluttkonsentrasjon på 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Trypsin-EDTA
Doubling time	ca. 24–36 timer
Subculturing	For rutinemessig adherent cellekultur: Aspirer det gamle dyrkningsmediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS for å fjerne eventuelt gjenværende medium. Etter at PBS er aspirert, tilsett et passende volum Trypsin/EDTA-løsning basert på størrelsen på dyrkingskaret (f.eks. 1 ml for en T25-kolbe, 3 ml for en T75-kolbe), og inkuber ved romtemperatur eller 37 °C til cellene løsner (5-10 minutter). Overvåk løsrivelsen under mikroskop, og bank forsiktig på beholderen om nødvendig for å frigjøre cellene. Når cellene har løsnet, tilsett komplett medium for å inaktivere trypsin/EDTA, resuspender cellene forsiktig, og overfør en alikvot av cellesuspensjonen til et nytt dyrkingskar som inneholder nytt medium. Plasser karet i en inkubator innstilt på 37 °C med 5 % $_{CO2}$, og bytt medium hver 2.-3. dag.
Split ratio	1 til 5

HEK293-CTLA4-celler | 305423

Seeding density	2 til 4 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
Post-Thaw Recovery	Etter tining deles cellene i forholdet 1:2 til 1:3 i T25-kolber, og cellene får komme seg etter fryseprosessen og feste seg (for adherente kulturer) i minst 24 timer.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.
Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig. 3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen. 4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den. 5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig. 6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig. 7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst. 8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, befuktet atmosfære.

HEK293-CTLA4-celler | 305423

Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.