Product sheet

Komórki HEK293-CTLA4 | 305423

Informacje ogólne

Description	**Zastrzeżenie: Podane ceny linii komórkowych dotyczą wyłącznie klientów akademickich lub organizacji non-profit. W przypadku podmiotów komercyjnych cena wynosi około 6 250 euro.** **Jeśli reprezentujesz podmiot komercyjny lub nie masz pewności, która kategoria ma zastosowanie, prosimy o kontakt.** Linia komórkowa HEK293-CTLA4 jest stabilną, rekombinowaną linią komórkową HEK293, zmodyfikowaną tak, aby wyrażała receptor CTLA4 na średnio-niskim poziomie, około 4000 cząsteczek na komórkę. Linia ta została opracowana przy użyciu technologii „landing pad" firmy inscreenex, zapewniającej precyzyjną i powtarzalną integrację genu CTLA4 w określonym, wstępnie zweryfikowanym locus genomowym. CTLA4, znany również jako CD152, jest białkiem punktu kontrolnego układu odpornościowego, które odgrywa kluczową rolę w regulacji aktywacji komórek T. Konkurując z receptorem stymulującym CD28 o wiązanie z cząsteczkami B7 (CD80 i CD86) na komórkach prezentujących antygen, CTLA4 hamuje reakcje immunologiczne, utrzymując w ten sposób tolerancję własną i zapobiegając autoimmunizacji. CTLA4 jest kluczowym celem w immunoterapii nowotworów, szczególnie w przypadku leków takich jak ipilimumab, których celem jest wzmocnienie odporności przeciwnowotworowej poprzez blokowanie tego punktu kontrolnego i aktywację komórek T. Ekspresję CTLA4 w tej linii komórkowej potwierdzono za pomocą cytometrii przepływowej z użyciem przeciwciała specyficznego dla celu, zapewniając wiarygodną i spójną gęstość receptora w całej populacji komórek.
Organism	Człowiek
Tissue	Nerka płodu
Disease	Zmodyfikowane/unieśmiertelnione; nie wywołujące nowotworów (na tle komórek HEK293)
Applications	Badania nad inhibitorami punktów kontrolnych; opracowywanie przeciwciał skierowanych przeciwko CTLA-4 (ipilimumab, analogi tremelimumabu); testy kostymulacji komórek T; badania przesiewowe w dziedzinie immunoonkologii; inżynieria przeciwciał bispecyficznych

Charakterystyka

Age	Płód
Gender	Kobieta
Morphology	Podobny do nabłonka
Cell type	Komórki nabłonkowe

Komórki HEK293-CTLA4 | 305423

Growth properties	Monowarstwa, przylegająca

Dane regulacyjne

Citation	HEK293-CTLA4 (numer katalogowy Cytion 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GMO-S1: Ten wariant HEK293 zawiera konstrukt ekspresji CTLA-4 do badań nad immunologicznymi punktami kontrolnymi. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić pożywkę 10% FBS, 1 mM pirogronianu sodu, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Dodać Geneticin (G418-Sulfat), aby osiągnąć końcowe stężenie 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Trypsyna-EDTA
Doubling time	ok. 24–36 godzin
Subculturing	W przypadku rutynowej hodowli komórek przylegających: Odessać starą pożywkę z przylegających komórek i przemyć je PBS w celu usunięcia pozostałości pożywki. Po odessaniu PBS, dodać odpowiednią objętość roztworu Trypsyna/EDTA w zależności od wielkości naczynia hodowlanego (np. 1 ml dla kolby T25, 3 ml dla kolby T75) i inkubować w temperaturze pokojowej lub 37°C do momentu odłączenia się komórek (5-10 minut). Monitoruj oderwanie pod mikroskopem i delikatnie postukaj w naczynie, jeśli to konieczne, aby uwolnić komórki. Po odłączeniu dodać pełną pożywkę w celu inaktywacji trypsyny/EDTA, delikatnie ponownie zawiesić komórki i przenieść porcję zawiesiny komórek do nowego naczynia hodowlanego zawierającego świeżą pożywkę. Umieść naczynie w inkubatorze ustawionym na 37°C z 5%$_{CO2}$ i zmieniaj pożywkę co 2-3 dni.

Komórki HEK293-CTLA4 | 305423

Split ratio	od 1 do 5
Seeding density	2 do 4 x 10^{4} komórek/cm^{2}
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu rozdzielić komórki w stosunku 1:2 do 1:3 w kolbach T25 i pozwolić komórkom na regenerację po procesie zamrażania i przyleganie (w przypadku hodowli adherentnych) przez co najmniej 24 godziny.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki HEK293-CTLA4 | 305423

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HEK293-CTLA4 | 305423

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.