

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 immuno-onkologii; 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 postukać 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. Umieścić naczynie w inkubatorze ustawionym na 37°C z 5%_{CO2} i zmieniać pożywkę co 2-3 dni.

Komórki HEK293-CTLA4 | 305423**Split ratio** od 1 do 5**Seeding density** 2 do 4×10^4 komórek/cm²**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 przepływowej, 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 $300 \times g$ 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% CO_2 , 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 fiolkę 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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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.