Product sheet

Células HEK293-CTLA4 | 305423

Informações gerais

Description	**Aviso legal: Os preços apresentados para as linhas celulares destinam-se exclusivamente a clientes académicos/sem fins lucrativos. Para entidades comerciais, o preço é de aproximadamente 6 250 €. Se representar uma entidade comercial ou não tiver a certeza de qual a categoria a que se enquadra, por favor contacte-nos.** A linha celular HEK293-CTLA4 é uma linha celular HEK293 recombinante estável, concebida para expressar o recetor CTLA4 a um nível médio-baixo, aproximadamente 4.000 moléculas por célula. Esta linha celular foi desenvolvida utilizando a tecnologia «landing pad» da inscreenex, garantindo uma integração precisa e reprodutível do gene CTLA4 num locus genómico específico e pré-validado. O CTLA4, também conhecido como CD152, é uma proteína de ponto de controlo imunitário que desempenha um papel crucial na regulação da ativação das células T. Ao competir com o recetor estimulador CD28 pela ligação às moléculas B7 (CD80 e CD86) nas células apresentadoras de antigénios, o CTLA4 regula negativamente as respostas imunitárias, mantendo assim a autotolerância e prevenindo a autoimunidade. O CTLA4 é um alvo-chave na imunoterapia do cancro, particularmente para fármacos como o ipilimumab, que visam aumentar a imunidade antitumoral através do bloqueio deste ponto de controlo e da ativação das células T. A expressão de CTLA4 nesta linha celular foi confirmada através de citometria de fluxo com um anticorpo específico para o alvo, garantindo uma densidade de recetores fiável e consistente em toda a população celular.
Organism	Humano
Tissue	Rim fetal
Disease	Transformado/imortalizado; não tumorigénico (linha celular HEK293)
Applications	Investigação sobre inibidores de pontos de controlo; desenvolvimento de anticorpos direcionados contra o CTLA-4 (ipilimumab, análogos do tremelimumab); ensaios de coestimulação de células T; triagem imuno-oncológica; engenharia de anticorpos bispecíficos

Caraterísticas

Age	Feto
Gender	Feminino
Morphology	De tipo epitelial
Cell type	Células epiteliais
Growth properties	Monocamada, aderente

Células HEK293-CTLA4 | 305423

Dados regulamentares

Citation	HEK293-CTLA4 (número de catálogo Cytion 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GMO-S1: Esta variante de HEK293 contém uma construção de expressão de CTLA-4 para investigação do ponto de controlo imunitário. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.

Dados biomoleculares

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Manuseamento

Culture Medium	RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO3 (número de artigo Cytion 820700a)
Supplements	Suplementar o meio com 10% de FBS, 1 mM de piruvato de sódio, 10 mM de HEPES, 1% de NEAA. Adicionar Geneticin (G418-Sulfat) para obter uma concentração final de 1 mg/mL.
Dissociation Reagent	Tripsina-EDTA
Doubling time	aprox. 24-36 horas
Subculturing	Para cultura de rotina de células aderentes: Aspirar o meio de cultura antigo das células aderentes e lavá-las com PBS para remover qualquer meio restante. Depois de aspirar o PBS, adicionar o volume adequado de solução de tripsina/EDTA com base no tamanho do recipiente de cultura (por exemplo, 1 ml para um frasco T25, 3 ml para um frasco T75) e incubar à temperatura ambiente ou a 37°C até as células se destacarem (5-10 minutos). Monitorizar o desprendimento sob um microscópio e, se necessário, bater suavemente no recipiente para libertar as células. Uma vez desprendidas, adicionar meio completo para inativar a tripsina/EDTA, ressuspender suavemente as células e transferir uma alíquota da suspensão de células para um novo recipiente de cultura contendo meio fresco. Colocar o recipiente numa incubadora regulada para 37°C com 5% $_{de\ CO2}$ e mudar o meio a cada 2-3 dias.
Split ratio	1 a 5

Células HEK293-CTLA4 | 305423

Seeding density	2 a 4 x 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Post-Thaw Recovery	Após a descongelação, dividir as células numa proporção de 1:2 a 1:3 em frascos T25 e deixar as células recuperar do processo de congelação e aderir (para culturas aderentes) durante pelo menos 24 horas.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Células HEK293-CTLA4 | 305423

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.
Flask Coating	Nenhum
Freezing Procedure	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Shipping Conditions	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility	A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.