Product sheet

Celule HEK293-CTLA4 | 305423

Informații generale

Description	**Avertisment: Prețurile afișate pentru liniile celulare sunt valabile exclusiv pentru clienții din mediul academic sau non-profit. Pentru entitățile comerciale, prețul este de aproximativ 6.250 €.** **Dacă reprezentați o entitate comercială sau nu sunteți sigur în ce categorie vă încadrați, vă rugăm să ne contactați.** Linia celulară HEK293-CTLA4 este o linie celulară HEK293 recombinantă stabilă, proiectată să exprime receptorul CTLA4 la un nivel mediu-scăzut, de aproximativ 4.000 de molecule pe celulă. Această linie celulară a fost dezvoltată folosind tehnologia „landing pad” a inscreenex, asigurând integrarea precisă și reproductibilă a genei CTLA4 într-un locus genomic specific, validat în prealabil. CTLA4, cunoscută și sub denumirea de CD152, este o proteină de punct de control imunitar care joacă un rol crucial în reglarea activării celulelor T. Prin competiția cu receptorul stimulator CD28 pentru legarea de moleculele B7 (CD80 și CD86) de pe celulele prezentatoare de antigen, CTLA4 reglează în jos răspunsurile imune, menținând astfel autotoleranța și prevenind autoimunitatea. CTLA4 este o țintă cheie în imunoterapia cancerului, în special pentru medicamente precum ipilimumab, care vizează îmbunătățirea imunității antitumorale prin blocarea acestui punct de control și activarea celulelor T. Expresia CTLA4 în această linie celulară a fost confirmată prin citometrie în flux cu un anticorp specific țintei, asigurând o densitate fiabilă și consistentă a receptorilor în întreaga populație celulară.
Organism	Om
Tissue	Rinichi fetal
Disease	Transformat/imortalizat; netumorigene (fond HEK293)
Applications	Cercetarea în domeniul inhibitorilor punctelor de control; dezvoltarea anticorpilor care vizează CTLA-4 (ipilimumab, analogi ai tremelimumabului); teste de costimulare a celulelor T; screening imuno-oncologic; proiectarea anticorpilor bispecifici

Caracteristici

Age	Fetusul
Gender	Femei
Morphology	De tip epitelial
Cell type	Celule epiteliale
Growth properties	Monostrat, aderent

Product sheet

Celule HEK293-CTLA4 | 305423

Date de reglementare

Citation	HEK293-CTLA4 (număr de catalog Cytion 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	OMG-S1: Această variantă HEK293 conține o construcție de expresie CTLA-4 pentru cercetarea punctelor de control imunitar. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate fi diferită în alte țări.

Date biomoleculare

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Manipulare

Culture Medium	RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO3 (număr articol Cytion 820700a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS, 1 mM piruvat de sodiu, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Adăugați Geneticin (G418-Sulfat) pentru a obține o concentrație finală de 1 mg/mL.
Dissociation Reagent	Tripsină-EDTA
Doubling time	aprox. 24-36 de ore
Subculturing	Pentru cultura de rutină a celulelor aderente: Se aspiră mediul de cultură vechi de pe celulele aderente și se spală cu PBS pentru a elimina orice mediu rămas. După aspirarea PBS, se adaugă volumul corespunzător de soluție de tripsină/EDTA în funcție de dimensiunea vasului de cultură (de exemplu, 1 ml pentru un balon T25, 3 ml pentru un balon T75) și se incubează la temperatura camerei sau la 37°C până când celulele se detașează (5-10 minute). Monitorizați detașarea la microscop și, dacă este necesar, loviți ușor vasul pentru a elibera celulele. După detașare, se adaugă mediu complet pentru a inactiva tripsina/EDTA, se resuspendă ușor celulele și se transferă o parte alicotă din suspensia celulară într-un nou vas de cultură care conține mediu proaspăt. Se plasează vasul într-un incubator la 37°C cu 5%$_{CO2}$ și se schimbă mediul la fiecare 2-3 zile.
Split ratio	de la 1 la 5

Celule HEK293-CTLA4 | 305423

Seeding density	2 până la 4 x 10^4 cel^{ule}/cm^2
Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână
Post-Thaw Recovery	După decongelare, separați celulele într-un raport de 1:2 până la 1:3 în flacoane T25 și lăsați celulele să se recupereze după procesul de congelare și să adere (pentru culturile aderente) timp de cel puțin 24 de ore.
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.
Thawing and Culturing Cells	1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului. 2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată. 3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață. 4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere. 5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor. 6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual. 7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă. 8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosferă umidificată.

Celule HEK293-CTLA4 | 305423

Flask Coating	Niciuna
Freezing Procedure	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheaţă carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menţine aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul şi se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.
Shipping Conditions	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheaţă carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menţine aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul şi se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.
Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 şi -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calităţii şi analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât şi metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescenţă. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecţii vizuale zilnice.