Product sheet

HEK293-CTLA4-celler | 305423

Allmän information

Description	**Ansvarsfriskrivning: De priser som anges för cellinjer gäller uteslutande för akademiska kunder och ideella organisationer. För kommersiella aktörer är priset cirka 6 250 euro.** **Om du representerar en kommersiell aktör eller är osäker på vilken kategori som gäller, vänligen kontakta oss.** Cellinjen HEK293-CTLA4 är en stabil rekombinant HEK293-cellinje som har konstruerats för att uttrycka CTLA4-receptorn på en medellåg nivå, cirka 4 000 molekyler per cell. Denna cellinje har utvecklats med hjälp av inscreenex landningsplattteknik, vilket säkerställer en precis och reproducerbar integration av CTLA4-genen på en specifik, förvaliderad genomisk locus. CTLA4, även känt som CD152, är ett immuncheckpoint-protein som spelar en avgörande roll i regleringen av T-cellsaktivering. Genom att konkurrera med den stimulerande receptorn CD28 om bindning till B7-molekyler (CD80 och CD86) på antigenpresenterande celler, nedreglerar CTLA4 immunresponser, vilket upprätthåller självtolerans och förhindrar autoimmunitet. CTLA4 är ett viktigt mål inom cancerimmunoterapi, särskilt för läkemedel som ipilimumab, som syftar till att förstärka antitumörimmuniteten genom att blockera denna kontrollpunkt och aktivera T-celler. Uttrycket av CTLA4 i denna cellinje bekräftades med hjälp av flödescytometri med en målspecifik antikropp, vilket säkerställde en tillförlitlig och konsekvent receptortäthet i hela cellpopulationen.
Organism	Människan
Tissue	Fetal njure
Disease	Transformerad/odödliggjord; icke-tumörbildande (HEK293-bakgrund)
Applications	Forskning om checkpoint-hämmare; utveckling av antikroppar riktade mot CTLA-4 (ipilimumab, tremelimumab-analoger); analyser av T-cellers kostimulering; screening inom immunonkologi; utveckling av bispecifika antikroppar

Egenskaper

Age	Foster
Gender	Kvinna
Morphology	Epitelliknande
Cell type	Epiteliala celler
Growth properties	Monolager, vidhäftande

HEK293-CTLA4-celler | 305423

Lagstadgade uppgifter

Citation	HEK293-CTLA4 (Cytion katalognummer 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GMO-S1: Denna HEK293-variant innehåller en CTLA-4-uttryckskonstruktion för forskning om immunkontrollpunkter. Denna klassificering gäller endast i Tyskland och kan skilja sig åt i andra länder.

Biomolekylära data

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Hantering

Culture Medium	RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Komplettera med 10% FBS, 1 mM natriumpyruvat, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Tillsätt Geneticin (G418-Sulfat) för att uppnå en slutlig koncentration på 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Trypsin-EDTA
Doubling time	ca 24–36 timmar
Subculturing	För rutinmässig adherent cellkultur: Aspirera det gamla odlingsmediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS för att avlägsna eventuellt kvarvarande medium. Efter aspirering av PBS, tillsätt lämplig volym Trypsin/EDTA-lösning baserat på odlingskärlets storlek (t.ex. 1 ml för en T25-kolv, 3 ml för en T75-kolv) och inkubera vid rumstemperatur eller 37°C tills cellerna lossnar (5-10 minuter). Övervaka avskiljningen under mikroskop och knacka försiktigt på kärlet om det behövs för att frigöra cellerna. När cellerna har lossnat, tillsätt komplett medium för att inaktivera trypsin/EDTA, resuspendera cellerna försiktigt och överför en alikvot av cellsuspensionen till ett nytt odlingskärl med färskt medium. Placera kärlet i en inkubator inställd på 37°C med 5%$_{CO2}$ och byt medium var 2-3:e dag.
Split ratio	1 till 5

HEK293-CTLA4-celler | 305423

Seeding density	2 till 4 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka
Post-Thaw Recovery	Efter upptining, dela upp cellerna i förhållandet 1:2 till 1:3 i T25-kolvar och låt cellerna återhämta sig från frysningsprocessen och fästa (för vidhäftande kulturer) i minst 24 timmar.
Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.
Thawing and Culturing Cells	1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten. 2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs. 3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår. 4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas. 5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt. 6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium. 7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt. 8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

HEK293-CTLA4-celler | 305423

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befuktad atmosfär.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.
Shipping Conditions	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.
Storage Conditions	För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

Sterility	Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.