Product sheet

Bunky HEK293-CTLA4 | 305423

Všeobecné informácie

Description	**Upozornenie: Uvedené ceny bunkových línií platia výlučne pre akademických a neziskových zákazníkov. Pre komerčné subjekty je cena približne 6 250 €.** **Ak zastupujete komerčný subjekt alebo si nie ste istí, do ktorej kategórie patríte, prosím, kontaktujte nás.** Bunková línia HEK293-CTLA4 je stabilná rekombinantná bunková línia HEK293, ktorá bola geneticky upravená tak, aby exprimovala receptor CTLA4 na stredne nízkej úrovni, približne 4 000 molekúl na bunku. Táto bunková línia bola vyvinutá pomocou technológie „landing pad“ spoločnosti inscreenex, ktorá zabezpečuje presnú a reprodukovateľnú integráciu génu CTLA4 na špecifickom, vopred validovanom genómovom lokuse. CTLA4, známy aj ako CD152, je proteín imunitného kontrolného bodu, ktorý zohráva kľúčovú úlohu v regulácii aktivácie T-buniek. Tým, že súťaží so stimulačným receptorom CD28 o väzbu na molekuly B7 (CD80 a CD86) na bunkách prezentujúcich antigén, CTLA4 potláča imunitné reakcie, čím udržiava autotoleranciu a zabraňuje autoimunitným reakciám. CTLA4 je kľúčovým cieľom v imunoterapii rakoviny, najmä pre lieky ako ipilimumab, ktorých cieľom je posilniť protinádorovú imunitu blokovaním tohto kontrolného bodu a aktiváciou T-buniek. Expresia CTLA4 v tejto bunkovej línii bola potvrdená pomocou prietokovej cytometrie s protilátkou špecifickou pre cieľ, čím sa zabezpečila spoľahlivá a konzistentná hustota receptora v celej bunkovej populácii.
Organism	Ľudské
Tissue	Fetálne obličky
Disease	Transformované/imortalizované; netumorogénne (na základe buniek HEK293)
Applications	Výskum inhibítorov kontrolných bodov; vývoj protilátok zameraných na CTLA-4 (ipilimumab, analógy tremelimumabu); testy kostimulácie T-buniek; skríning v oblasti imunoonkológie; vývoj bispecifických protilátok

Charakteristika

Age	Plod
Gender	Ženy
Morphology	Epitelu podobné
Cell type	Epitelové bunky
Growth properties	Monovrstva, priliehajúca

Bunky HEK293-CTLA4 | 305423

Regulačné údaje

Citation	HEK293-CTLA4 (katalógové číslo Cytion 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GMO-S1: Tento variant HEK293 obsahuje expresný konštrukt CTLA-4 na výskum kontrolných bodov imunitného systému. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a inde sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Spracovanie

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS, 1 mM pyruvát sodný, 10 mM HEPES, 1 % NEAA. Pridajte geneticín (G418-Sulfat) na dosiahnutie konečnej koncentrácie 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Trypsín-EDTA
Doubling time	cca 24–36 hodín
Subculturing	Na bežné adherentné bunkové kultúry: Odstráňte staré kultivačné médium z adherentných buniek a premyte ich PBS, aby ste odstránili zvyšné médium. Po odsatí PBS pridajte príslušný objem roztoku trypsínu/EDTA podľa veľkosti kultivačnej nádoby (napr. 1 ml pre banku T25, 3 ml pre banku T75) a inkubujte pri izbovej teplote alebo 37 °C, kým sa bunky neoddelia (5 - 10 minút). Oddeľovanie sledujte pod mikroskopom a v prípade potreby jemne poklepte na nádobu, aby sa bunky uvoľnili. Po oddelení pridajte kompletné médium na inaktiváciu trypsínu/EDTA, jemne resuspendujte bunky a alikvotnú časť bunkovej suspenzie preneste do novej kultivačnej nádoby obsahujúcej čerstvé médium. Nádobu umiestnite do inkubátora nastaveného na 37 °C s 5 % $_{CO2}$ a médium vymieňajte každé 2 - 3 dni.
Split ratio	1 až 5

Bunky HEK293-CTLA4 | 305423

Seeding density	2 až 4 x 10^4 buniek/cm^2
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení rozdeľte bunky v pomere 1:2 až 1:3 do banky T25 a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazovania a priľnúť (v prípade adhezívnych kultúr) aspoň 24 hodín.
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.
Thawing and Culturing Cells	1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota. 2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia. 3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč. 4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom. 5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte. 6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média. 7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek. 8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Bunky HEK293-CTLA4 | 305423

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žiadne
Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.