Product sheet

Celice HEK293-CTLA4 | 305423

Splošne informacije

Description	**Opomba: Cene, prikazane za celične linije, veljajo izključno za akademsko in neprofitno javnost. Za komercialne subjekte znaša cena približno 6.250 €.** **Če zastopate komercialni subjekt ali niste prepričani, v katero kategorijo spadate, vas prosimo, da nas kontaktirate.** Celična linija HEK293-CTLA4 je stabilna rekombinantna celična linija HEK293, ki je bila zasnovana tako, da izraža receptor CTLA4 na srednje-nizki ravni, približno 4.000 molekul na celico. Ta celična linija je bila razvita z uporabo tehnologije »landing pad« podjetja inscreenex, ki zagotavlja natančno in ponovljivo integracijo gena CTLA4 na specifičnem, vnaprej validiranem genomskem lokusu. CTLA4, znan tudi kot CD152, je beljakovina imunskega kontrolnega točke, ki igra ključno vlogo pri uravnavanju aktivacije T-celic. S tekmovanjem s stimulativnim receptorjem CD28 za vezavo na molekule B7 (CD80 in CD86) na celicah, ki predstavljajo antigen, CTLA4 zavira imunski odziv, s čimer ohranja avtotoleranco in preprečuje avtoimunost. CTLA4 je ključni cilj v imunoterapiji raka, zlasti za zdravila, kot je ipilimumab, katerih cilj je okrepiti protitumorno imunost z blokiranjem tega kontrolnega točke in aktiviranjem T-celic. Ekspresija CTLA4 v tej celični liniji je bila potrjena s pretočno citometrijo s ciljno specifičnim protitelesom, kar zagotavlja zanesljivo in dosledno gostoto receptorjev v celotni celični populaciji.
Organism	Človek
Tissue	Plodove ledvice
Disease	Preoblikovano/imortalizirano; netumorogeno (na podlagi celic HEK293)
Applications	Raziskave na področju zaviralcev kontrolnih točk; razvoj protiteles, usmerjenih proti CTLA4 (ipilimumab, analogi tremelimumaba); testi za kostimulacijo T-celic; presejanje na področju imunoonkologije; inženiring bispecifičnih protiteles

Značilnosti

Age	Plod
Gender	Ženske
Morphology	Epitelijam podobni
Cell type	Epitelijske celice
Growth properties	Enoslojni, adherentni

Product sheet

Celice HEK293-CTLA4 | 305423

Regulativni podatki

Citation	HEK293-CTLA4 (kataloška številka Cytion 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GSO-S1: Ta različica HEK293 vsebuje konstrukt za izražanje CTLA-4 za raziskave imunskih kontrolnih točk. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

Biomolekularni podatki

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO3 (številka izdelka Cytion 820700a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS, 1 mM natrijevega piruvata, 10 mM HEPES, 1 % NEAA. Dodajte geneticin (G418-Sulfat), da dosežete končno koncentracijo 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Tripsin-EDTA
Doubling time	približno 24–36 ur
Subculturing	Za rutinsko gojenje adherentnih celic: Iz adherentnih celic odsesajte staro gojišče in jih sperite s PBS, da odstranite preostalo gojišče. Po odsesanju PBS dodajte ustrezno količino raztopine tripsina/EDTA glede na velikost posode za gojenje (npr. 1 ml za bučko T25, 3 ml za bučko T75) in inkubirajte pri sobni temperaturi ali 37 °C, dokler se celice ne ločijo (5-10 minut). Odlepitev spremljajte pod mikroskopom in po potrebi nežno potrkajte posodo, da se celice sprostijo. Ko se celice odcepijo, dodajte popolno gojišče za inaktivacijo tripsina/EDTA, nežno ponovno suspendirajte celice in prenesite alikvot celične suspenzije v novo posodo za gojenje s svežim gojiščem. Posodo postavite v inkubator, nastavljen na 37 °C s 5 % $_{CO2}$, in gojišče zamenjajte vsake 2 do 3 dni.
Split ratio	1 do 5

Celice HEK293-CTLA4 | 305423

Seeding density	2 do 4 x 10^4 celic/cm^2
Fluid renewal	2 do 3-krat na teden
Post-Thaw Recovery	Po odmrznitvi celice razdelite v razmerju 1:2 do 1:3 v bučke T25 in pustite, da si celice opomorejo od postopka zamrzovanja in da se zlepijo (za lepljive kulture) vsaj 24 ur.
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavrzite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Celice HEK293-CTLA4 | 305423

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 %$_{CO2}$, vlažno ozračje.
Flask Coating	Nič
Freezing Procedure	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Shipping Conditions	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Storage Conditions	Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility	Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence. Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.