Product sheet

HEK293-CTLA4 Hücreleri | 305423

Genel bilgi

Description	**Yasal Uyarı: Hücre hatları için gösterilen fiyatlar yalnızca akademik/kar amacı gütmeyen müşteriler içindir. Ticari kuruluşlar için fiyat yaklaşık 6.250 €'dur. Ticari bir kuruluşu temsil ediyorsanız veya hangi kategoriye girdiğinizden emin değilseniz, lütfen bizimle iletişime geçin.** HEK293-CTLA4 hücre hattı, CTLA4 reseptörünü orta-düşük bir seviyede, hücre başına yaklaşık 4.000 molekül olacak şekilde eksprese etmek üzere tasarlanmış, stabil bir rekombinant HEK293 hücre hattıdır. Bu hücre hattı, inscreenex'in landing pad teknolojisi kullanılarak geliştirilmiştir ve CTLA4 geninin önceden doğrulanmış belirli bir genomik lokusa hassas ve tekrarlanabilir bir şekilde entegre edilmesini sağlar. CD152 olarak da bilinen CTLA4, T hücresi aktivasyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan bir immün kontrol noktası proteinidir. CTLA4, antijen sunan hücreler üzerindeki B7 moleküllerine (CD80 ve CD86) bağlanmak için uyarıcı reseptör CD28 ile rekabet ederek bağışıklık tepkilerini azaltır, böylece öz toleransı korur ve otoimmüniteyi önler. CTLA4, kanser immünoterapisinde, özellikle bu kontrol noktasını bloke ederek ve T hücrelerini aktive ederek anti-tümör bağışıklığını güçlendirmeyi amaçlayan ipilimumab gibi ilaçlar için kilit bir hedeftir. Bu hücre hattında CTLA4 ekspresyonu, hedef spesifik bir antikor kullanılarak akış sitometrisi ile doğrulanmış ve hücre popülasyonu genelinde güvenilir ve tutarlı reseptör yoğunluğu sağlanmıştır.
Organism	İnsan
Tissue	Fetal Böbrek
Disease	Dönüştürülmüş/ölümsüzleştirilmiş; tümör oluşturmayan (HEK293 arka planı)
Applications	Kontrol noktası inhibitörleri üzerine araştırmalar; CTLA4'ü hedef alan antikor geliştirme (ipilimumab, tremelimumab analogları); T hücresi ko-stimülasyon testleri; immüno-onkoloji taraması; bispesifik antikor mühendisliği

Özellikler

Age	Fetüs
Gender	Kadın
Morphology	Epitel benzeri
Cell type	Epitel hücreleri
Growth properties	Tek katmanlı, yapışık

HEK293-CTLA4 Hücreleri | 305423

Düzenleyici Veriler

Citation	HEK293-CTLA4 (Cytion katalog numarası 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GDO-S1: Bu HEK293 varyantı, bağışıklık kontrol noktası araştırmaları için bir CTLA-4 ifade yapısı içerir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Elleçleme

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO3 (Cytion makale numarası 820700a)
Supplements	Ortamı %10 FBS, 1 mM sodyum piruvat, 10 mM HEPES, %1 NEAA ile takviye edin. Nihai 1 mg/mL konsantrasyon elde etmek için Geneticin (G418-Sulfat) ekleyin.
Dissociation Reagent	Tripsin-EDTA
Doubling time	yaklaşık 24-36 saat
Subculturing	Rutin yapışık hücre kültürü için: Yapışık hücrelerden eski kültür ortamını aspire edin ve kalan ortamı çıkarmak için PBS ile yıkayın. PBS'yi aspire ettikten sonra kültür kabı boyutuna göre uygun hacimde Tripsin/EDTA solüsyonu ekleyin (örn. T25 şişesi için 1 ml, T75 şişesi için 3 ml) ve hücreler ayrılana kadar (5-10 dakika) oda sıcaklığında veya 37°C'de inkübe edin. Mikroskop altında ayrılmayı izleyin ve gerekirse hücreleri serbest bırakmak için kaba hafifçe vurun. Hücreler ayrıldıktan sonra Tripsin/EDTA'yı inaktive etmek için tam ortam ekleyin, hücreleri nazikçe yeniden süspanse edin ve hücre süspansiyonunun bir alikotunu taze ortam içeren yeni bir kültür kabına aktarın. Kabı %5$_{CO2}$ ile 37°C'ye ayarlanmış bir inkübatöre yerleştirin ve ortamı 2-3 günde bir değiştirin.
Split ratio	1'den 5'e kadar

HEK293-CTLA4 Hücreleri | 305423

Seeding density	2 ila 4 x 10^{4} hücre/cm^{2}
Fluid renewal	haftada 2 ila 3 kez
Post-Thaw Recovery	Çözüldükten sonra, hücreleri 1:2 ila 1:3 oranında T25 flasklara bölün ve hücrelerin donma sürecinden kurtulmasına ve en az 24 saat boyunca yapışmasına (yapışkan kültürler için) izin verin.
Freeze medium	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.
Thawing and Culturing Cells	1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin. 2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyoviali hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin. 3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün. 4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin. 5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın. 6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın. 7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın. 8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.
Incubation Atmosphere	37°C, %5 $_{CO2}$, nemlendirilmiş atmosfer.

HEK293-CTLA4 Hücreleri | 305423

Flask Coating	Yok
Freezing Procedure	Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.
Shipping Conditions	Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.
Storage Conditions	Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

Sterility	Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır. Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.