

Клітини HEK293-CTLA4 | 305423

Загальна інформація

Description

Застереження: Ціни, вказані для клітинних ліній, призначені виключно для клієнтів з академічних та некомерційних організацій. Для комерційних організацій ціна становить приблизно 6 250 євро. Якщо ви представляєте комерційну організацію або не впевнені, до якої категорії належите, будь ласка, [зверніться до нас](#).

Клітинна лінія HEK293-CTLA4 — це стабільна рекомбінантна клітинна лінія HEK293, створена для експресії рецептора CTLA4 на середньо-низькому рівні, приблизно 4 000 молекул на клітину. Ця клітинна лінія була розроблена з використанням технології «landing pad» компанії inscreenex, що забезпечує точну та відтворювану інтеграцію гена CTLA4 у конкретний, попередньо валідований геномний локус. CTLA4, також відомий як CD152, є білком імунного контрольного пункту, який відіграє вирішальну роль у регулюванні активації Т-клітин. Конкуруючи зі стимулюючим рецептором CD28 за зв'язування з молекулами B7 (CD80 та CD86) на клітинах-презентерах антигену, CTLA4 пригнічує імунні реакції, тим самим підтримуючи аутолерантність та запобігаючи аутоімунності. CTLA4 є ключовою мішенню в імунотерапії раку, зокрема для таких препаратів, як іпілімумаб, які спрямовані на посилення протипухлинного імунітету шляхом блокування цього контрольного пункту та активації Т-клітин.

Експресія CTLA4 у цій клітинній лінії була підтверджена за допомогою проточної цитометрії з використанням антитіла, специфічного до мішені, що забезпечило надійну та стабільну щільність рецепторів у клітинній популяції.

Organism Людина

Tissue Ембріональна нирка

Характеристики

Age Плід

Gender Жінка

Morphology Епітеліальноподібні

Growth properties Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Citation HEK293-CTLA4 (номер за каталогом Cytion 305423)

Biosafety level 1

Клітини HEK293-CTLA4 | 305423

NCBI_TaxID 9606**GMO Status** GMO-S1: Цей варіант HEK293 містить конструкцію експресії CTLA-4 для дослідження контрольних точок імунітету. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Receptors expressed CTLA4 (CD152)

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO₃ (номер за каталожним номером 820700a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS, 1 мМ пірвату натрію, 10 мМ HEPES, 1% NEAA. Додайте генетин (G418-Sulfat) для досягнення кінцевої концентрації 1 мг/мл.**Dissociation Reagent** Трипсин-ЕДТА**Subculturing** Для рутинного культивування адгезивних клітин: Аспіруйте старе культуральне середовище з адгезивних клітин і промийте їх PBS, щоб видалити залишки середовища. Після аспірації PBS додайте відповідний об'єм розчину трипсину/ЕДТА залежно від розміру культуральної посудини (наприклад, 1 мл для колби T25, 3 мл для колби T75) та інкубуйте при кімнатній температурі або 37°C до відокремлення клітин (5-10 хвилин). Спостерігайте за відшаруванням під мікроскопом і, якщо необхідно, обережно постукайте по посудині, щоб звільнити клітини. Після відокремлення додайте повне середовище для інактивації трипсину/ЕДТА, обережно ресуспендуйте клітини і перенесіть аліквоту клітинної суспензії в нову культуральну посудину зі свіжим середовищем. Помістіть посудину в інкубатор, налаштований на 37°C з 5% CO₂, і міняйте середовище кожні 2-3 дні.**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Post-Thaw Recovery** Після розморожування розділіть клітини у співвідношенні 1:2 - 1:3 у колбах T25 і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування і прилипнути протягом щонайменше 24 годин.

Для кращої адгезії та життєздатності клітин після розморожування ми рекомендуємо використовувати колби або планшети з колагеновим покриттям для первинного посіву після крові відновлення. Для подальшого рутинного культивування клітин колагенове покриття не потрібне.

Клітини HEK293-CTLA4 | 305423

Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Hi

Клітини HEK293-CTLA4 | 305423

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.