**Product sheet**

# Клітини HEK293-CTLA4 | 305423

## Загальна інформація

| | |
|---|---|
| **Description** | **Відмова від відповідальності: Ціни на клітинні лінії вказані виключно для некомерційних клієнтів. Якщо ви представляєте комерційну організацію, будь ласка, зв'яжіться з нами для отримання альтернативних цін.**<br><br>Клітинна лінія HEK293-CTLA4 - це стабільна рекомбінантна клітинна лінія HEK293, сконструйована для експресії рецептора CTLA4 на середньо-низькому рівні, приблизно 4 000 молекул на клітину. Ця клітинна лінія була розроблена з використанням технології посадкового майданчика inscreenex, що забезпечує точну і відтворювану інтеграцію гена CTLA4 в певний, попередньо валідований геномний локус. CTLA4, також відомий як CD152, є білком імунної контрольної точки, який відіграє вирішальну роль у регуляції активації Т-клітин. Конкуруючи зі стимулюючим рецептором CD28 за зв'язування з молекулами B7 (CD80 і CD86) на антигенпрезентуючих клітинах, CTLA4 пригнічує імунну відповідь, таким чином підтримуючи самотолерантність і запобігаючи розвитку аутоімунних захворювань. CTLA4 є ключовою мішенню в імунотерапії раку, особливо для таких препаратів, як іпілімумаб, які спрямовані на посилення протипухлинного імунітету шляхом блокування цієї контрольної точки та активації Т-клітин.<br><br>Експресія CTLA4 в цій клітинній лінії була підтверджена за допомогою проточної цитофлуориметрії з мішень-специфічними антитілами, що забезпечило надійну та послідовну 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 пірувату 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.<br><br>Для кращої адгезії та життєздатності клітин після розморожування ми рекомендуємо використовувати колби або планшети з колагеновим покриттям для первинного посіву після кріовідновлення. Для подальшого рутинного культивування клітин колагенове покриття не потрібне. |

## Клітини HEK293-CTLA4 | 305423

| | |
|---|---|
| **Freeze medium** | Як середовище кріоконсервування 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 кріоіндукованого 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 кріовіал 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, зануривши 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 кріовіал 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 x 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% $_{CO2}$, волога атмосфера. |

**Flask Coating**

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

## Клітини HEK293-CTLA4 | 305423

| | |
|---|---|
| **Freezing Procedure** | Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній 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 перевіреній 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.<br><br>Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю. |