Product sheet

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 аутотолерантність 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
Disease	Трансформовані/увічнені; непухлиногенні (на основі клітинної лінії HEK293)
Applications	Дослідження інгібіторів контрольних точок; розробка антитіл, спрямованих проти CTLA4 (іпілімумаб, аналоги тремелімумабу); аналізи костимуляції Т-клітин; скринінг в галузі імуноонкології; розробка біспецифічних антитіл

Характеристики

Age	Плід
Gender	Жінка
Morphology	Епітеліальноподібні
Cell type	Епітеліальні клітини

Клітини HEK293-CTLA4 | 305423

Growth properties	Одношаровий, адгезійний

Нормативні дані

Citation	HEK293-CTLA4 (номер за каталогом Cytion 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
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
Doubling time	приблизно 24–36 годин

Клітини HEK293-CTLA4 | 305423

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.
Split ratio	від 1 до 5
Seeding density	Від 2 до 4 x 10^{4} клітин/см2
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 склеїтися (для адгезивних культур) протягом щонайменше 24 годин.
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.

Клітини HEK293-CTLA4 | 305423

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	Ні
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.

Клітини HEK293-CTLA4 | 305423

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 без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце 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 та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.