Product sheet

Cellules HEK293-CTLA4 | 305423

Renseignements généraux

Description	**Avertissement : Les prix indiqués pour les lignées cellulaires s'adressent exclusivement aux clients du milieu universitaire ou à but non lucratif. Pour les entités commerciales, le prix est d'environ 6 250 €. Si vous représentez une entité commerciale ou si vous ne savez pas à quelle catégorie vous appartenez, veuillez nous contacter.** La lignée cellulaire HEK293-CTLA4 est une lignée cellulaire HEK293 recombinante stable, conçue pour exprimer le récepteur CTLA4 à un niveau moyen-faible, soit environ 4 000 molécules par cellule. Cette lignée cellulaire a été développée à l'aide de la technologie « Landing Pad » d'inscreenex, garantissant une intégration précise et reproductible du gène CTLA4 à un locus génomique spécifique et prévalidé. Le CTLA4, également connu sous le nom de CD152, est une protéine de point de contrôle immunitaire qui joue un rôle crucial dans la régulation de l'activation des cellules T. En entrant en compétition avec le récepteur stimulateur CD28 pour la liaison aux molécules B7 (CD80 et CD86) présentes sur les cellules présentatrices d'antigènes, le CTLA4 régule à la baisse les réponses immunitaires, maintenant ainsi l'autotolérance et prévenant l'auto-immunité. Le CTLA4 est une cible clé en immunothérapie du cancer, en particulier pour des médicaments comme l'ipilimumab, qui visent à renforcer l'immunité antitumorale en bloquant ce point de contrôle et en activant les cellules T. L'expression du CTLA4 dans cette lignée cellulaire a été confirmée par cytométrie en flux à l'aide d'un anticorps spécifique de la cible, garantissant une densité de récepteurs fiable et constante dans l'ensemble de la population cellulaire.
Organism	Humain
Tissue	Rein fœtal
Disease	Transformé/immortalisé; non tumorigène (lignée HEK293)
Applications	Recherche sur les inhibiteurs de points de contrôle; développement d'anticorps ciblant le CTLA-4 (ipilimumab, analogues du tremelimumab); tests de co-stimulation des cellules T; criblage en immuno-oncologie; ingénierie des anticorps bispécifiques

Caractéristiques

Age	Fœtus
Gender	Femme
Morphology	De type épithélial
Cell type	Cellules épithéliales

Cellules HEK293-CTLA4 | 305423

Growth properties	Monocouche, adhérente

Données réglementaires

Citation	HEK293-CTLA4 (numéro de catalogue Cytion 305423)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G20
GMO Status	GMO-S1 : Cette variante de la lignée cellulaire HEK293 contient une construction d'expression du gène CTLA-4 destinée à la recherche sur les points de contrôle immunitaires. Cette classification ne s'applique qu'en Allemagne et peut varier ailleurs.

Données biomoléculaires

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10 % de FBS, 1 mM de pyruvate de sodium, 10 mM d'HEPES et 1 % de NEAA. Ajouter de la Geneticin (G418-Sulfat) pour obtenir une concentration finale de 1 mg/mL.
Dissociation Reagent	Trypsine-EDTA
Doubling time	environ 24 à 36 heures

Cellules HEK293-CTLA4 | 305423

Subculturing	Pour une culture cellulaire adhérente de routine : Aspirer l'ancien milieu de culture des cellules adhérentes, puis les laver avec du PBS afin d'éliminer tout résidu de milieu. Après avoir aspiré le PBS, ajouter le volume approprié de solution de trypsine/EDTA en fonction de la taille du récipient de culture (p. ex., 1 ml pour un flacon T25, 3 ml pour un flacon T75), puis incubez à température ambiante ou à 37 °C jusqu'à ce que les cellules se détachent (5 à 10 minutes). Surveillez le détachement au microscope et tapotez doucement le récipient si nécessaire pour libérer les cellules. Une fois les cellules détachées, ajoutez du milieu complet pour inactiver la trypsine/EDTA, remettez délicatement les cellules en suspension, puis transférez une aliquote de la suspension cellulaire dans un nouveau récipient de culture contenant du milieu frais. Placer le récipient dans un incubateur réglé à 37 °C avec 5 % de CO_2, et changer le milieu tous les 2 à 3 jours.
Split ratio	1 à 5
Seeding density	de 2 à 4 × 10^4 cellules/cm^2
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Après la décongélation, divisez les cellules dans un rapport de 1:2 à 1:3 dans des flacons T25 et laissez-les se remettre du processus de congélation et adhérer (pour les cultures adhérentes) pendant au moins 24 heures.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules HEK293-CTLA4 | 305423

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.

4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.

8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.