

Клетки CHO-CTLA4 | 305414

Обща информация

Description

Забележка: Посочените цени за клетъчните линии са валидни единствено за академични/нестопански клиенти. За търговски субекти цената е приблизително 6 250 евро. Ако представлявате търговски субект или не сте сигурни в коя категория попадате, моля [свържете се с нас](#).

Клетъчната линия CHO-CTLA4 е стабилна рекомбинантна клетъчна линия CHO (Chinese Hamster Ovary), създадена да експресира рецептора CTLA4 на средно-ниско ниво, приблизително 3000 молекули на клетка. Тази клетъчна линия е създадена с помощта на иновативна технология за „качане“, която улеснява целевата интеграция на гена CTLA4 в специфичен, предварително валидиран геномни локус. CTLA4, известен също като CD152, е критичен имуно контролен пункт, който се намира предимно върху Т-клетките. Той функционира, като се конкурира с CD28 за свързване с B7 молекули (CD80 и CD86) върху антиген-представящите клетки, което води до потискане на активацията на Т-клетките. Този механизъм е жизненоважен за поддържането на имунната самотолерантност и предотвратяването на автоимунитета. Ролята на CTLA4 в модулирането на имунните реакции го е превърнала в значима мишена в имунотерапията на рака, особено в стратегиите за блокиране на имунните контролни точки.

Експресията на CXCR7 в тази клетъчна линия беше потвърдена чрез проточна цитометрия.

Organism Китайски хамстер

Tissue Яйчник

Характеристики

Age Възрастни

Gender Жена

Morphology Подобни на епител

Growth properties Прилепване/суспензия

Регулаторни данни

Citation CHO-CTLA4 (каталожен номер 305414 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10029

Клетки CHO-CTLA4 | 305414

GMO Status GMO-S1: Това производно на CHO съдържа конструкт за експресия на CTLA-4, който позволява изследвания на контролните рецептори. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекуларни данни

Receptors expressed CTLA4 (CD152)

Работа с

Culture Medium За адхезивни култури: DMEM: Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)

За суспензионни култури: CHO Growth Medium A (от InSCREENeX; каталожен номер INS-ME-1039 на InSCREENeX)

Supplements За адхезивни култури: Допълнете средата с 5% FBS. Добавете Geneticin (G418-Sulfat), за да достигнете крайна концентрация от 0,5 mg/ml.

Dissociation Reagent За адхезивни култури: Трипсин-EDTA

Subculturing За рутинни адхезивни клетъчни култури: Аспирирайте старата хранителна среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, за да отстраните останалата среда. След като аспирирате PBS, добавете подходящия обем разтвор на трипсин/EDTA в зависимост от размера на съда за култивиране (напр. 1 ml за колба T25, 3 ml за колба T75) и инкубирайте при стайна температура или 37 °C за 5-10 минути или докато клетките се отделят. Наблюдавайте отделянето под микроскоп и ако е необходимо, леко потупайте съда, за да освободите клетките. След отделянето им добавете пълна среда, за да инактивирате трипсина/EDTA, внимателно ресуспендирайте клетките и прехвърлете аликвотна част от клетъчната суспензия в нов съд за култивиране, съдържащ прясна среда. Поставете съда в инкубатор, настроен на 37 °C с 5% CO₂, и сменяйте средата на всеки 2-3 дни.

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Post-Thaw Recovery След размразяването разделете клетките в съотношение 1:2 до 1:3 в колби T25 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да залепнат (за залепнали култури) за най-малко 24 часа.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки CHO-CTLA4 | 305414**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки CHO-CTLA4 | 305414

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.