Product sheet

CHO-PDCD1 клетки | 305973

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.** CHO-PDCD1 клетките са рекомбинантни клетки от яйчници на китайски хамстер (CHO), модифицирани да експресират стабилно човешкия протеин 1 за програмирана клетъчна смърт (PD-1; PDCD1/CD279) – инхибиторен имунен контролен рецептор, открит предимно върху активирани Т-клетки, В-клетки и други подгрупи имунни клетки. PD-1 е трансмембранен протеин от тип I, принадлежащ към суперсемейството на имуноглобулините, и функционира като критичен регулатор на имунната толерантност чрез взаимодействие с лигандите си PD-L1 (CD274) и PD-L2 (PDCD1LG2). Стабилни CHO модели, експресиращи PDCD1, обикновено се разработват, за да осигурят контролирана и възпроизводима експресия на рецептора за клетъчни свързващи и функционални тестове. CHO-PDCD1 клетките се използват широко в имуноонкологията и работните процеси за разработване на терапевтични антитела, особено за характеризиране на антитела инхибитори на контролни точки, проучвания на взаимодействието лиганд-рецептор, измервания на афинитет и скрининг тестове, базирани на проточна цитометрия. Тези клетки са подходящи и за оценка на биспецифични антитела, инженерни лиганди, стратегии за насочване на CAR-T и тестове за заетост на рецепторите, включващи сигналната ос PD-1/PD-L1. Тъй като CHO-клетките притежават стабилни характеристики на растеж, висока ефективност на трансфекция и ниска ендогенна експресия на много човешки имунни рецептори, те осигуряват добре дефинирана среда за изучаване на биологията на рекомбинантния PD-1 и терапевтичното насочване.
Organism	Китайски хамстер
Tissue	Яйчник
Disease	Яйчници на китайски хамстер, ненеопластични; генетично модифицирани за повърхностна експресия на PD-1 (PDCD1/CD279)
Applications	Скрининг за антитела; разработване на имунотерапия, насочена към PD-1; изследвания в областта на инхибиторите на контролните точки; биология на Т-клетките; проточна цитометрия

Характеристики

Age	Възрастни
Gender	Жена
Morphology	Подобни на епител

CHO-PDCD1 клетки | 305973

Cell type	Епителни клетки
Growth properties	Прилепване/суспензия

Регулаторни данни

Citation	CHO-PDCD1 (каталожен номер на Cytion 305973)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10029
CellosaurusAccession	CVCL_A8X0
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия от CHO съдържа касета за експресия на PDCD1, която позволява извършването на анализи на рецепторната функция. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други държави.

Биомолекулярни данни

Receptors expressed	PDCD1/CD279

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
Doubling time	около 14–16 часа

CHO-PDCD1 клетки | 305973

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.
Split ratio	от 1 до 5
Seeding density	2 до 5 x 10^{4} клетки/cm^{2}
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.

CHO-PDCD1 клетки | 305973

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 °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 антимикробен агент с температура 37 °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 разбъркате 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°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

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 и молекулярен анализ

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.