Product sheet

CHO-EGFR клетки | 305977

Обща информация

Description	**Забележка: Посочените цени за клетъчните линии са предназначени изключително 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-EGFR клетките са рекомбинантни клетки от яйчници на китайски хамстер (CHO), модифицирани да експресират стабилно човешкия рецептор на епидермалния растежен фактор (EGFR/ERBB1/HER1) – рецепторна тирозин киназа, принадлежаща към семейството ErbB. EGFR регулира ключови клетъчни процеси, включително пролиферация, оцеляване, миграция и диференциация чрез активиране на надолу по веригата сигнални пътища като MAPK/ERK, PI3K/AKT и JAK/STAT. Анормалната експресия, амплификация или мутация на EGFR често се свързва с множество солидни тумори, включително недребноклетъчен белодробен рак, колоректален рак, глиобластома и плоскоклетъчен карцином на главата и шията. Стабилните CHO-EGFR модели осигуряват контролирана платформа за изследване на биологията на рецептора и терапевтичното насочване. CHO-EGFR клетките се използват широко в онкологичните изследвания и разработката на биологични продукти за характеризиране на анти-EGFR моноклонални антитела, инхибитори на тирозин киназа, биспецифични антитела, конюгати на антитела и лекарства и инженерни имуноцелуларни терапии. Тези клетки подпомагат количествената оценка на свързването на лиганда, активацията на рецептора, интернализацията, състоянието на фосфорилиране, сигнализирането надолу по веригата и терапевтичната блокада. Те се използват често и в тестове с проточна цитометрия, проучвания на заетостта на рецепторите, скрининг с висока производителност и работни процеси за тестване на потентността. Тъй като CHO-клетките притежават стабилни характеристики на растеж и относително ниска ендогенна експресия на човешките рецепторни системи, те предлагат възпроизводима основа за рекомбинантна експресия на EGFR и разработване на стандартизирани тестове.
Organism	Китайски хамстер
Tissue	Яйчник
Disease	Яйчници на китайски хамстер, ненеопластични; генетично модифицирани за повърхностна експресия на EGFR
Applications	Скрининг за антитела; разработване на терапия, насочена към EGFR; ADCC/CDC тестове; изследвания в областта на рака на белия дроб и колоректалния рак; проточна цитометрия

Характеристики

Age	Възрастни
Gender	Жена

CHO-EGFR клетки | 305977

Morphology	Подобни на епител
Cell type	Епителна клетка на яйчниците
Growth properties	Прилепване/суспензия

Регулаторни данни

Citation	CHO-EGFR (каталожен номер на Cytion 305977)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10029
CellosaurusAccession	CVCL_A8W3
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия от CHO съдържа касета за експресия на EGFR, която позволява провеждането на анализи на функцията на рецептора. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Surface antigens	EGFR (HER1/ErbB1/CD340)

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-EGFR клетки | 305977

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-EGFR клетки | 305977

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.