Product sheet

Клетки CHO-NECTIN4 | 305984

Обща информация

Description	**Забележка: Показаните 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.** Клетките CHO-NECTIN4 представляват стабилна рекомбинантна клетъчна линия от яйчници на китайски хамстер (CHO), модифицирана да експресира човешкия Nectin-4 (известен също като PVRL4 или протеин 4, свързан с рецептора на полиовируса), трансмембранен протеин от тип I, принадлежащ към семейството на нектините – молекули за клетъчна адхезия. Nectin-4 е добре установен туморен антиген, който се свръхекспресира в множество видове солидни тумори, включително уротелиален карцином на пикочния мехур, рак на гърдата, недребноклетъчен белодробен карцином и рак на панкреаса, което го превръща в клинично валидирана мишена за антитяло-лекарствени конюгати (ADC) и други целеви имунотерапевтични средства. ADC-то енфортумаб ведотин, което е насочено към нектин-4, е одобрено за лечение на уротелиален карцином, което подчертава терапевтичната значимост на този антиген. Клетките CHO-NECTIN4 се използват широко за разработване и характеризиране на антитела, насочени срещу Nectin-4, ADC, биспецифични антитела и CAR-T-клетъчни терапии. Стабилната рекомбинантна експресионна система поддържа количествени тестове за свързване, оценки на цитотоксичността чрез ADCC/CDC, изследвания на интернализацията на рецепторите и скрининг на антитела с висока производителност чрез проточна цитометрия. CHO-базата осигурява ниска ендогенна експресия на повечето човешки повърхностни антигени, което гарантира, че наблюдаваните сигнали се дължат на стабилно експресирания трансген Nectin-4. Тази клетъчна линия е валидирана за използване в работни процеси по откриване на лекарства, предклиничен подбор на кандидати и механистични изследвания на биологията на рецептора Nectin-4.
Organism	Китайски хамстер
Tissue	Яйчник
Disease	Яйчници на китайски хамстер, ненеопластични; генетично модифицирани за повърхностна експресия на NECTIN4 (PVRL4)
Applications	Скрининг за антитела; разработване на ADC; разработване на терапия, насочена към NECTIN4; изследвания в областта на уротелиалния рак и рака на гърдата; проточна цитометрия

Характеристики

Age	Възрастни
Gender	Жена
Morphology	Подобни на епител

Клетки CHO-NECTIN4 | 305984

Cell type	Епителни клетки
Growth properties	Прилепване/суспензия

Регулаторни данни

Citation	CHO-NECTIN4 (каталожен номер на Cytion 305984)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10029
CellosaurusAccession	CVCL_A8W9
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия от типа CHO съдържа касета за експресия на NECTIN4, която позволява провеждането на анализи на рецепторната функция. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Surface antigens	NECTIN4 (PVRL4/CD112R)

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

Клетки CHO-NECTIN4 | 305984

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.

Клетки CHO-NECTIN4 | 305984

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 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 в утвърдени, изолирани опаковки 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.

Клетки CHO-NECTIN4 | 305984

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.