Product sheet

Клетки HEK293-CD20 | 305987

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.** Клетките HEK293-CD20 са човешки ембрионални бъбречни клетки 293 (HEK293), модифицирани да експресират стабилно човешки CD20 (MS4A1) – негликозилиран трансмембранен фосфопротеин, експресиран предимно върху B-лимфоцитите. CD20 участва в регулацията на активацията, пролиферацията, диференциацията и калциевата сигнализация на B-клетките и служи като една от най-широко валидираните терапевтични мишени при хематологични злокачествени заболявания и автоимунни заболявания. Стабилните модели HEK293-CD20 осигуряват контролирана и възпроизводима повърхностна експресия на антигена, което позволява подробна характеристика на терапевтичните средства, насочени към CD20, и на имуномедиираните механизми. Клетките HEK293-CD20 се използват широко в имуноонкологията и разработването на биологични продукти за оценка на моноклонални антитела, биспецифични антитела, конюгати на антитела и лекарства и инженерни имунни клетъчни терапии, насочени към CD20. Тези клетки подпомагат количествения анализ на афинитета на свързване на антителата, специфичността на епитопа, заетостта на рецепторите, динамиката на интернализацията и Fc-медиираните имунни ефекторни функции, като антителозависима клетъчна цитотоксичност (ADCC) и комплемент-зависима цитотоксичност (CDC). Те се използват често и при разработването на тестове за проточна цитометрия, тестове за потентност, биоанализи с репортери и работни процеси за терапевтичен скрининг с висока производителност. Тъй като HEK293 клетките подпомагат ефективната експресия на рекомбинантни протеини и стабилния клетъчен растеж, те осигуряват надеждна и мащабируема платформа за създаване на стандартизирани тестове и проучвания за валидиране на мишени.
Organism	Човек
Tissue	Фетален бъбрек
Disease	Трансформиран/увековечен; нетуморогенен (на базата на HEK293)
Applications	Разработване на антитела, насочени срещу CD20, и биспецифични антитела; CAR-T-клетъчна терапия; ADCC/CDC-тестове; проточна цитометрия; тестване на ефикасността на биологични продукти; изследвания на антигени на B-клетките

Характеристики

Age	Плод
Gender	Жена

Клетки HEK293-CD20 | 305987

Morphology	Подобни на епител
Cell type	Епителни клетки
Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation	HEK293-CD20 (каталожен номер на Cytion 305987)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A8V4
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия HEK293 съдържа конструкт за експресия на CD20 (MS4A1), предназначен за изследвания на терапевтични антитела и имунни ефекторни функции. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Receptors expressed	CD20

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS, 1 mM натриев пируват, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Добавете Geneticin (G418-Sulfat), за да достигнете крайна концентрация от 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Трипсин-EDTA
Doubling time	около 24–36 часа

Клетки HEK293-CD20 | 305987

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, докато клетките се отделят (5-10 минути). Наблюдавайте отделянето под микроскоп и при необходимост леко потупайте съда, за да освободите клетките. След като се отделят, 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 4 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 HEK293-CD20 | 305987

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.

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.