

Buňky CHO-PDCD1 | 305973

Obecné informace

Description

Upozornění: Ceny uvedené u buněčných linií platí výhradně pro akademické a neziskové zákazníky. Pro komerční subjekty činí cena přibližně 6 250 EUR.

Pokud zastupujete komerční subjekt nebo si nejste jisti, do které kategorie spadáte, prosím [nás kontaktujte](#).

CHO-PDCD1 buňky jsou rekombinantní buňky vaječníků čínského křečka (CHO), které byly geneticky upraveny tak, aby stabilně exprimovaly lidský protein programované buněčné smrti 1 (PD-1; PDCD1/CD279), inhibiční receptor imunitního kontrolního bodu, který se vyskytuje především na aktivovaných T buňkách, B buňkách a dalších podskupinách imunitních buněk. PD-1 je transmembránový protein typu I patřící do superrodiny imunoglobulinů a funguje jako klíčový regulátor imunitní tolerance prostřednictvím interakce se svými ligandy PD-L1 (CD274) a PD-L2 (PDCD1LG2). Stabilní modely CHO exprimující PDCD1 se běžně vyvíjejí za účelem zajištění kontrolované a reprodukovatelné exprese receptoru pro buněčné vazebné a funkční testy.

Buňky CHO-PDCD1 jsou široce používány v immuno-onkologii a při vývoji terapeutických protilátek, zejména pro charakterizaci protilátek proti inhibitorům kontrolních bodů, studie interakce ligand-receptor, měření afinity a screeningové testy založené na průtokové cytometrii. Tyto buňky jsou také vhodné pro hodnocení bispecifických protilátek, modifikovaných ligandů, strategií cílení CAR-T a testů obsazení receptorů zahrnujících signální osu PD-1/PD-L1. Vzhledem k tomu, že buňky CHO vykazují robustní růstové charakteristiky, vysokou účinnost transfekce a nízkou endogenní expresi mnoha lidských imunitních receptorů, poskytují dobře definované prostředí pro studium biologie rekombinantního PD-1 a terapeutického cílení.

Organism

Čínský křeček

Tissue

Ovarium

Disease

Vaječníky čínského křečka, nenádorové; geneticky modifikované pro povrchovou expresi PD-1 (PDCD1/CD279)

Applications

Screening protilátek; vývoj imunoterapie zaměřené na PD-1; výzkum inhibitorů kontrolních bodů; biologie T-buněk; průtoková cytometrie

Charakteristika

Age

Dospělí

Gender

Ženy

Morphology

Epitelu podobné

Cell type

Epitelové buňky

Buňky CHO-PDCD1 | 305973

Growth properties

Přilnavost/suspenze

Regulační údaje

Citation

CHO-PDCD1 (katalogové číslo Cytion 305973)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10029

CellosaurusAccession

CVCL_A8X0

GMO Status

GMO-S1: Tato buněčná linie CHO obsahuje expresní kazetu PDCD1, která umožňuje analýzy funkce receptorů. Tato klasifikace platí pouze v Německu a v jiných zemích se může lišit.

Biomolekulární data

Receptors expressed

PDCD1/CD279

Zpracování

Culture Medium

Pro adherentní kultury: DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)

Pro suspenzní kultury: Růstové médium CHO A (od společnosti InSCREENeX; katalogové číslo společnosti InSCREENeX INS-ME-1039)

Supplements

Pro adherentní kultury: Doplněte médium o 5% FBS. Přidejte geneticin (G418-Sulfat), abyste dosáhli konečné koncentrace 0,5 mg/ml.

Dissociation Reagent

Pro adherentní kultury: Trypsin-EDTA

Doubling time

cca 14–16 hodin

Buňky CHO-PDCD1 | 305973

Subculturing	Pro běžné kultivace adherentních buněk: Z adherentních buněk odsadte staré kultivační médium a promyjte je PBS, abyste odstranili veškeré zbývající médium. Po odsátí PBS přidejte příslušný objem roztoku Trypsin/EDTA podle velikosti kultivační nádoby (např. 1 ml pro baňku T25, 3 ml pro baňku T75) a inkubujte při pokojové teplotě nebo 37 °C po dobu 5 až 10 minut nebo dokud se buňky neoddělí. Oddělování sledujte pod mikroskopem a v případě potřeby jemně poklepejte na nádobu, aby se buňky uvolnily. Po oddělení přidejte kompletní médium k inaktivaci trypsinu/EDTA, jemně resuspendujte buňky a alikvotní část buněčné suspenze přeneste do nové kultivační nádoby obsahující čerstvé médium. Umístěte nádobu do inkubátoru nastaveného na 37 °C s 5 % CO ₂ a každé 2 až 3 dny vyměňte médium.
Split ratio	1 až 5
Seeding density	2 až 5 x 10 ⁴ buněk/cm ²
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení rozdělte buňky v poměru 1:2 až 1:3 do baněk T25 a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazování a adherovat (v případě adherujících kultur).
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky CHO-PDCD1 | 305973**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Buňky CHO-PDCD1 | 305973

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.