Product sheet

CHO-CTLA4-Zellen | 305414

Allgemeine Informationen

Description	**Haftungsausschluss: Die für Zelllinien angegebenen Preise gelten ausschließlich für akademische/gemeinnützige Kunden. Für kommerzielle Einrichtungen beträgt der Preis ca. 6.250 €. Wenn Sie eine kommerzielle Einrichtung vertreten oder sich nicht sicher sind, welche Kategorie auf Sie zutrifft, kontaktieren Sie uns bitte.** Die CHO-CTLA4-Zelllinie ist eine stabile rekombinante CHO-Zelllinie (Chinese Hamster Ovary), die so entwickelt wurde, dass sie den CTLA4-Rezeptor auf einem mittleren bis niedrigen Niveau exprimiert, etwa 3.000 Moleküle pro Zelle. Diese Zelllinie wurde unter Verwendung einer innovativen Landing-Pad-Technologie erstellt, die die gezielte Integration des CTLA4-Gens an einem spezifischen, vorab validierten genomischen Locus ermöglicht. CTLA4, auch bekannt als CD152, ist ein entscheidendes Immun-Checkpoint-Protein, das vor allem auf T-Zellen zu finden ist. Es wirkt, indem es mit CD28 um die Bindung an B7-Moleküle (CD80 und CD86) auf Antigen-präsentierenden Zellen konkurriert, was zur Herunterregulierung der T-Zell-Aktivierung führt. Dieser Mechanismus ist entscheidend für die Aufrechterhaltung der immunologischen Selbsttoleranz und die Verhinderung von Autoimmunität. Die Rolle von CTLA4 bei der Modulation von Immunantworten hat es zu einem bedeutenden Ziel in der Krebsimmuntherapie gemacht, insbesondere bei Strategien zur Blockade von Immun-Checkpoints. Die Expression von CXCR7 in dieser Zelllinie wurde mittels Durchflusszytometrie bestätigt.
Organism	Chinesischer Hamster
Tissue	Eierstock
Disease	Ovarialzellen des chinesischen Hamsters, nicht-neoplastisch; gentechnisch verändert zur Expression von CTLA-4 auf der Zelloberfläche
Applications	Antikörperscreening; Entwicklung einer auf CTLA-4 ausgerichteten Immuntherapie; Forschung zu Checkpoint-Inhibitoren; Durchflusszytometrie; Wirkstoffforschung

Merkmale

Age	Erwachsener
Gender	Weiblich
Morphology	Epithelähnlich
Cell type	Epithelzellen
Growth properties	Adhärent/Suspension

CHO-CTLA4-Zellen | 305414

Regulatorische Daten

Citation	CHO-CTLA4 (Cytion Katalognummer 305414)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10029
CellosaurusAccession	CVCL_A8V8
GMO Status	GMO-S1: Dieses CHO-Derivat enthält ein CTLA-4-Expressionskonstrukt, das Checkpoint-Rezeptorstudien ermöglicht. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

Handhabung

Culture Medium	Für adhärente Kulturen: DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion-Artikelnummer 820400a) Für Suspensionskulturen: CHO-Wachstumsmedium A (von InSCREENeX; InSCREENeX-Katalognummer INS-ME-1039)
Supplements	Für adhärente Kulturen: Ergänzen Sie das Medium mit 5% FBS. Geneticin (G418-Sulfat) hinzufügen, um eine Endkonzentration von 0,5 mg/ml zu erreichen.
Dissociation Reagent	Für adhärente Kulturen: Trypsin-EDTA
Doubling time	ca. 14–16 Stunden

CHO-CTLA4-Zellen | 305414

Subculturing	Für die routinemäßige adhärente Zellkultur: Saugen Sie das alte Kulturmedium von den adhärenten Zellen ab und waschen Sie sie mit PBS, um das restliche Medium zu entfernen. Nach dem Absaugen des PBS die entsprechende Menge Trypsin/EDTA-Lösung je nach Größe des Kulturgefäßes zugeben (z. B. 1 ml für einen T25-Kolben, 3 ml für einen T75-Kolben) und bei Raumtemperatur oder 37 °C 5-10 Minuten lang inkubieren, oder bis sich die Zellen ablösen. Überwachen Sie die Ablösung unter dem Mikroskop und klopfen Sie bei Bedarf vorsichtig auf das Gefäß, um die Zellen freizusetzen. Sobald sich die Zellen abgelöst haben, fügen Sie vollständiges Medium hinzu, um das Trypsin/EDTA zu inaktivieren, resuspendieren Sie die Zellen vorsichtig und transferieren Sie einen aliquoten Teil der Zellsuspension in ein neues Kulturgefäß mit frischem Medium. Stellen Sie das Gefäß in einen Inkubator, der auf 37°C mit 5%$_{CO2}$ eingestellt ist, und wechseln Sie das Medium alle 2-3 Tage.
Split ratio	1 bis 5
Seeding density	2 bis 5 x 10^4 Zellen/cm^2
Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche
Post-Thaw Recovery	Nach dem Auftauen die Zellen im Verhältnis 1:2 bis 1:3 in T25-Kolben aufteilen und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und anhaften lassen (bei adhärenten Kulturen).
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

CHO-CTLA4-Zellen | 305414

Thawing and Culturing Cells	1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten. 2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist. 3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt. 4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol. 5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen. 6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. 7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern. 8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.