

CHO-CTLA4-Zellen | 305414

Allgemeine Informationen

Description

Haftungsausschluss: Die angezeigten Preise für Zelllinien sind ausschließlich für gemeinnützige Kunden bestimmt. Wenn Sie eine kommerzielle Einrichtung vertreten, kontaktieren Sie uns bitte für alternative Preise.

Die CHO-CTLA4-Zelllinie ist eine stabile rekombinante CHO-Zelllinie (Chinese Hamster Ovary), die den CTLA4-Rezeptor auf einem mittleren bis niedrigen Niveau exprimiert (etwa 3.000 Moleküle pro Zelle). Diese Zelllinie wurde mit Hilfe einer innovativen Landing-Pad-Technologie hergestellt, die die gezielte Integration des CTLA4-Gens an einem spezifischen, vorab validierten genomischen Locus ermöglicht. CTLA4, auch bekannt als CD152, ist ein wichtiges Immun-Checkpoint-Protein, das hauptsächlich auf T-Zellen zu finden ist. Es konkurriert mit CD28 um die Bindung an B7-Moleküle (CD80 und CD86) auf Antigen-präsentierenden Zellen, was zu einer Herunterregulierung der T-Zell-Aktivierung führt. Dieser Mechanismus ist entscheidend für die Aufrechterhaltung der Selbsttoleranz des Immunsystems und die Verhinderung von Autoimmunität. Die Rolle von CTLA4 bei der Modulation von Immunantworten hat es zu einem wichtigen Ziel in der Krebsimmuntherapie gemacht, insbesondere bei Strategien zur Blockade von Immun-Checkpoints.

Die Expression von CXCR7 in dieser Zelllinie wurde durchflusszytometrisch bestätigt.

Organism Chinesischer Hamster

Tissue Eierstock

Merkmale

Age Erwachsener

Gender Weiblich

Morphology Epithelähnlich

Growth properties Adhärenz/Suspension

Regulatorische Daten

Citation CHO-CTLA4 (Cytion Katalognummer 305414)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10029

CHO-CTLA4-Zellen | 305414

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 adhärenente 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 adhärenente 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 adhärenente Kulturen: Trypsin-EDTA

Subculturing Für die routinemäßige adhärenente Zellkultur: Saugen Sie das alte Kulturmedium von den adhärenenten 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 auf 37°C und 5%_{CO2} eingestellten Inkubator und wechseln Sie das Medium alle 2-3 Tage.

Split ratio Für den ersten Split nach dem Auftauen wird ein Verhältnis von 1:2 empfohlen. Für die Routinekultur wird ein Verhältnis von 1:5 bis 1:10 empfohlen.

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 adhärenenten Kulturen).

CHO-CTLA4-Zellen | 305414

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.

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten 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% CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

CHO-CTLA4-Zellen | 305414

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 / Genetisches Profil / HLA

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.