Product sheet

Κύτταρα CHO-PDCD1 | 305973

Γενικές πληροφορίες

Description	**Σημείωση: Οι τιμές που εμφανίζονται για τις κυτταρικές σειρές ισχύουν αποκλειστικά για πελάτες του ακαδημαϊκού τομέα ή μη κερδοσκοπικού χαρακτήρα. Για εμπορικές οντότητες, η τιμή ανέρχεται σε περίπου 6.250 €.** **Εάν εκπροσωπείτε εμπορική οντότητα ή δεν είστε σίγουροι για την κατηγορία στην οποία ανήκετε, παρακαλούμε επικοινωνήστε μαζί μας.** Τα κύτταρα CHO-PDCD1 είναι ανασυνδυασμένα κύτταρα ωοθηκών κινέζικου χάμστερ (CHO) που έχουν τροποποιηθεί γενετικά ώστε να εκφράζουν σταθερά την ανθρώπινη πρωτεΐνη προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 1 (PD-1; PDCD1/CD279), έναν ανασταλτικό υποδοχέα ανοσολογικού σημείου ελέγχου που βρίσκεται κυρίως σε ενεργοποιημένα Τ κύτταρα, Β κύτταρα και άλλες υποομάδες ανοσοκυττάρων. Η PD-1 είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη τύπου Ι που ανήκει στην υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών και λειτουργεί ως κρίσιμος ρυθμιστής της ανοσολογικής ανοχής μέσω της αλληλεπίδρασης με τους συνδέτες της PD-L1 (CD274) και PD-L2 (PDCD1LG2). Τα σταθερά μοντέλα CHO που εκφράζουν PDCD1 αναπτύσσονται συνήθως για να παρέχουν ελεγχόμενη και αναπαραγώγιμη έκφραση του υποδοχέα για δοκιμασίες σύνδεσης και λειτουργικές αναλύσεις με βάση τα κύτταρα. Τα κύτταρα CHO-PDCD1 χρησιμοποιούνται ευρέως σε ροές εργασίας ανοσο-ογκολογίας και ανάπτυξης θεραπευτικών αντισωμάτων, ιδίως για τον χαρακτηρισμό αντισωμάτων αναστολέων σημείων ελέγχου, μελέτες αλληλεπίδρασης προσδέτη-υποδοχέα, μετρήσεις συγγένειας και δοκιμές διαλογής με βάση την κυτταρομετρία ροής. Αυτά τα κύτταρα είναι επίσης κατάλληλα για την αξιολόγηση δισπεκτικών αντισωμάτων, τροποποιημένων προσδετών, στρατηγικών στόχευσης CAR-T και δοκιμασιών καταλήψεως υποδοχέων που εμπλέκουν τον άξονα σηματοδότησης PD-1/PD-L1. Επειδή τα κύτταρα CHO παρουσιάζουν ισχυρά χαρακτηριστικά ανάπτυξης, υψηλή απόδοση μεταμόλυνσης και χαμηλή ενδογενή έκφραση πολλών ανθρώπινων ανοσολογικών υποδοχέων, παρέχουν ένα καλά καθορισμένο υπόβαθρο για τη μελέτη της βιολογίας του ανασυνδυασμένου PD-1 και της θεραπευτικής στόχευσης.
Organism	Κινέζικο χάμστερ
Tissue	Ωοθήκη
Disease	Ωοθήκη κινέζικου χάμστερ, μη νεοπλασματική· γενετικά τροποποιημένη για επιφανειακή έκφραση του PD-1 (PDCD1/CD279)
Applications	Διαγνωστικός έλεγχος αντισωμάτων· ανάπτυξη ανοσοθεραπείας με στόχο τον PD-1· έρευνα σχετικά με τους αναστολείς σημείων ελέγχου· βιολογία των Τ-κυττάρων· κυτταρομετρία ροής

Χαρακτηριστικά

Age	Ενηλίκων
Gender	Γυναίκα

Product sheet

Κύτταρα CHO-PDCD1 | 305973

Morphology	Επιθηλιοειδής
Cell type	Επιθηλιακά κύτταρα
Growth properties	Προσκολλημένο/αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	CHO-PDCD1 (αριθμός καταλόγου Cytion 305973)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10029
CellosaurusAccession	CVCL_A8X0
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά CHO περιέχει μια κασέτα έκφρασης του PDCD1 που επιτρέπει την πραγματοποίηση αναλύσεων της λειτουργίας του υποδοχέα. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο στη Γερμανία και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	PDCD1/CD279

Χειρισμός

Culture Medium	Για προσκολλημένες καλλιέργειες: DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820400a) Για καλλιέργειες εναιωρήματος: CHO Growth Medium A (από την InSCREENeX- αριθμός καταλόγου της InSCREENeX INS-ME-1039)
Supplements	Για προσκολλημένες καλλιέργειες: Συμπληρώστε το μέσο με 5% FBS. Προσθέστε Geneticin (G418-Sulfat) για να επιτευχθεί τελική συγκέντρωση 0,5 mg/ml.
Dissociation Reagent	Για προσκολλημένες καλλιέργειες: Τρυψίνη-EDTA
Doubling time	περίπου 14-16 ώρες

Κύτταρα CHO-PDCD1 | 305973

Subculturing	Για συνήθη καλλιέργεια προσκολλημένων κυττάρων: Αναρροφήστε το παλιό μέσο καλλιέργειας από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS για να απομακρύνετε τυχόν εναπομείναν μέσο. Αφού αναρροφήσετε το PBS, προσθέστε τον κατάλληλο όγκο διαλύματος Trypsin/EDTA με βάση το μέγεθος του δοχείου καλλιέργειας (π.χ. 1 ml για φιάλη T25, 3 ml για φιάλη T75) και επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου ή 37°C για 5-10 λεπτά ή μέχρι να αποκολληθούν τα κύτταρα. Παρακολουθήστε την αποκόλληση στο μικροσκόπιο και χτυπήστε απαλά το δοχείο εάν είναι απαραίτητο για να απελευθερώσετε τα κύτταρα. Αφού αποκολληθούν, προσθέστε πλήρες μέσο για να αδρανοποιήσετε την Τρυψίνη/EDTA, ανασυσσωματώστε απαλά τα κύτταρα και μεταφέρετε μια εκατοστιαία ποσότητα του εναιωρήματος των κυττάρων σε ένα νέο δοχείο καλλιέργειας που περιέχει φρέσκο μέσο. Τοποθετήστε το δοχείο σε επωαστήρα ρυθμισμένο στους 37°C με 5% $_{CO2}$ και αλλάζετε το μέσο κάθε 2-3 ημέρες.
Split ratio	1 έως 5
Seeding density	2 έως 5 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, χωρίστε τα κύτταρα σε αναλογία 1:2 έως 1:3 σε φιάλες T25 και αφήστε τα κύτταρα να ανακάμψουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν (για προσκολλημένες καλλιέργειες) για τουλάχιστον 24 ώρες.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.