Product sheet

CHO-EPCAM-rakud | 305974

Üldine teave

Description	**Vastutuse välistamine: Rakuliinide juures näidatud hinnad kehtivad ainult akadeemilistele ja mittetulunduslikele klientidele. Äriühingute puhul on hind ligikaudu 6250 eurot.** **Kui esindate äriühingut või ei ole kindel, milline kategooria teie puhul kehtib, palun võtke meiega ühendust.** CHO-EPCAM-rakud on rekombinantseid hiina hamstri munasarja (CHO) rakke, mis on konstrueeritud stabiilselt ekspresseerima inimese epiteelirakkude adhesiivmolekuli (EpCAM; CD326/TACSTD1) – transmembraanset glükoproteiini, mida ekspresseeritakse laialdaselt epiteelikudedes ja mille ekspressioon on paljudes epiteelist pärinevates vähivormides tugevalt ülesreguleeritud. EpCAM osaleb rakkudevahelises adhesiivis, proliferatsioonis, diferentseerumises ning signaaliteedes, mis on seotud tuumori progresseerumise ja metastaasidega. Stabiilseid CHO-EPCAM-mudeleid luuakse tavaliselt selleks, et tagada kontrollitud ja reprodutseeritav EpCAM-i pinnal ekspressioon, mida kasutatakse seondumise, sihtmärgistamise ja funktsionaalsete analüüside läbiviimisel, mis hõlmavad terapeutilisi antikehi ja geneetiliselt muundatud immuunrakkude ravi. CHO-EPCAM-rakke kasutatakse laialdaselt onkoloogias ja translatsioonilises uurimistöös anti-EpCAM-monoklonaalsete antikehade, antikeha-ravimkonjugaatide, bispetsiifiliste T-rakkude aktivaatorite ning CAR-T- või CAR-NK-rakkude ravimeetodite arendamiseks ja iseloomustamiseks. Mudel on eriti kasulik antigeenispetsiifilise seondumisafiinsuse, retseptori hõivatuse, internaliseerumise kineetika, tsütotoksilisuse ja immuunsünapsi moodustumise hindamiseks. Lisaks toetavad need rakud voolutsütomeetria analüüside arendamist, suure läbilaskevõimega sõelumist ning EpCAM-ile suunatud pildistamisainete või diagnostiliste platvormide valideerimist. Kuna CHO-rakud näitavad stabiilseid kasvutunnuseid ja paljude inimese epiteelmarkerite minimaalse endogeense ekspressiooni, pakuvad nad ühtlast tausta rekombinantse antigeeni ekspressiooni uuringuteks.
Organism	Hiina hamster
Tissue	Munasarjad
Disease	Hiina hamstri munasarja rakud, mitte-neoplastilised; geneetiliselt muundatud EpCAM (CD326) pinnalise ekspressiooni saavutamiseks
Applications	Antikehade sõelumine; EpCAM-ile suunatud ravi väljatöötamine; ADCC/CDC-analüüsid; epiteelkasvajate uurimine; voolutsütomeetria

Omadused

Age	Täiskasvanud
Gender	Naised

CHO-EPCAM-rakud | 305974

Morphology	Epiteelilaadsed
Cell type	Munasarja epiteelirakk
Growth properties	Kinni jääv/suspensioon

Regulatiivsed andmed

Citation	CHO-EPCAM (Cytioni kataloginumber 305974)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10029
CellosaurusAccession	CVCL_D2TL
GMO Status	GMO-S1: See CHO-rakuliin sisaldab EpCAM-i ekspressioonikassetti, mis võimaldab läbi viia retseptori funktsiooni analüüse. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed	EpCAM (CD326)

Töötlemine

Culture Medium	Kinniste kultuuride puhul: DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikli number 820400a) Suspensioonikultuuride puhul: CHO kasvukeskkond A (InSCREENeX; InSCREENeXi kataloginumber INS-ME-1039)
Supplements	Kinniste kultuuride puhul: Täiendage keskkonda 5% FBS-ga. Lisage genetitsiini (G418-Sulfat), et saavutada lõplik kontsentratsioon 0,5 mg/ml.
Dissociation Reagent	Kinniste kultuuride puhul: Trypsin-EDTA
Doubling time	u. 14–16 tundi

CHO-EPCAM-rakud | 305974

Subculturing	Rutiinseks adherentseks rakukultuuriks: Aspireerige adhereeruvatelt rakkudelt vana kultuurkeskkond ja peske neid PBS-ga, et eemaldada allesjäänud keskkond. Pärast PBS-i aspiratsiooni lisage sobiv kogus trüpsiini/EDTA lahust vastavalt kasvatusanuma suurusele (nt 1 ml T25 kolvi puhul, 3 ml T75 kolvi puhul) ja inkubeerige toatemperatuuril või 37°C 5-10 minutit või kuni rakud eralduvad. Jälgige rakkude eraldumist mikroskoobi all ja koputage vajadusel õrnalt anumat, et rakud eralduksid. Kui rakud on eraldunud, lisage trüpsiini/EDTA inaktiveerimiseks täielikku söötmeainet, suspenseerige rakud ettevaatlikult uuesti ja kandke rakususpensiooni alikvoot uude, värsket söötmeainet sisaldavasse kultuuranumasse. Asetage anum inkubaatorisse, mille temperatuur on 37 °C ja 5%$_{CO2}$, ning vahetage söötme iga 2-3 päeva tagant.
Split ratio	1–5
Seeding density	2 kuni 5 x $10^{4\ rak}$ku/cm^2
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist jagage rakud 1:2 kuni 1:3 T25 kolvidesse ja laske rakkudel taastuda külmumisprotsessist ja adhereeruda (adhereeruvate kultuuride puhul) vähemalt 24 tundi.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

CHO-EPCAM-rakud | 305974

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp. 4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga. 5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu. 8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

CHO-EPCAM-rakud | 305974

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.