Product sheet

CHO-CTLA4 sejtek | 305414

Általános információk

Description	**Jogi nyilatkozat: A sejtvonalak mellett feltüntetett árak kizárólag tudományos/nonprofit ügyfelekre vonatkoznak. Kereskedelmi szervezetek esetében az ár körülbelül 6 250 euró.** **Ha kereskedelmi szervezetet képvisel, vagy nem biztos abban, melyik kategória vonatkozik Önre, kérjük, vegye fel velünk a kapcsolatot.** A CHO-CTLA4 sejtvonal egy stabil, rekombináns CHO (kínai hörcsög petefészek) sejtvonal, amelyet úgy alakítottak ki, hogy közepes-alacsony szinten, sejtenként körülbelül 3000 molekulával fejezze ki a CTLA4 receptort. Ezt a sejtvonalat egy innovatív „landing pad” technológia segítségével hozták létre, amely megkönnyíti a CTLA4 gén célzott integrációját egy specifikus, előzetesen validált genomikus lókuszba. A CTLA4, más néven CD152, egy kritikus immunellenőrző pont fehérje, amely elsősorban a T-sejteken található. Úgy működik, hogy a CD28-cal verseng a B7-molekulákhoz (CD80 és CD86) való kötődésért az antigént bemutató sejteken, ami a T-sejtek aktivációjának lecsökkentéséhez vezet. Ez a mechanizmus elengedhetetlen az immunológiai öntolerancia fenntartásához és az autoimmunitás megelőzéséhez. A CTLA4 immunválaszok modulálásában betöltött szerepe miatt jelentős célponttá vált a rák immunterápiájában, különösen az immunellenőrző pontok blokkolására irányuló stratégiákban. A CXCR7 expresszióját ebben a sejtvonalban áramlási citometriával igazolták.
Organism	Kínai hörcsög
Tissue	Petefészek
Disease	Kínai hörcsög petefészeksejt, nem neoplasztikus; CTLA-4 felszíni expresszióra génmódosítva
Applications	Antitest-szűrés; CTLA-4-re irányuló immunterápia fejlesztése; ellenőrzőpont-gátlók kutatása; áramlási citometria; gyógyszerfejlesztés

Jellemzők

Age	Felnőtt
Gender	Női
Morphology	Epithelszerű
Cell type	Epithel sejtek
Growth properties	Tapadó/felfüggesztés

Product sheet

CHO-CTLA4 sejtek | 305414

Szabályozási adatok

Citation	CHO-CTLA4 (Cytion katalógusszám: 305414)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10029
CellosaurusAccession	CVCL_A8V8
GMO Status	GMO-S1: Ez a CHO-származék CTLA-4-expressziós konstrukciót tartalmaz, amely lehetővé teszi az ellenőrzőpont-receptorok vizsgálatát. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed	CTLA4 (CD152)

A kezelése

Culture Medium	Adhezív kultúrákhoz: DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion 820400a cikkszám) Szuszpenziós kultúrákhoz: CHO Growth Medium A (az InSCREENeX-től; az InSCREENeX katalógusszáma: INS-ME-1039)
Supplements	Adhezív kultúrákhoz: A táptalajt 5% FBS-szel egészítsük ki. Adjunk hozzá geneticint (G418-Sulfat), hogy a végső koncentráció 0,5 mg/ml legyen.
Dissociation Reagent	Adhezív kultúrákhoz: Trypsin-EDTA
Doubling time	kb. 14–16 óra

CHO-CTLA4 sejtek | 305414

Subculturing	Rutinszerű adherens sejtkultúrához: Szívja le a régi táptalajt az adherens sejtekről, és mossa le őket PBS-szel a maradék táptalaj eltávolítása érdekében. A PBS leszívása után adjunk hozzá a tenyésztőedény méretének megfelelő mennyiségű tripszin/EDTA-oldatot (pl. 1 ml T25 lombik esetén, 3 ml T75 lombik esetén), és inkubáljuk szobahőmérsékleten vagy 37°C-on 5-10 percig, vagy amíg a sejtek leválnak. Ellenőrizzük a leválást mikroszkóp alatt, és ha szükséges, óvatosan kopogtassuk meg az edényt a sejtek kiszabadításához. A leválás után adjunk hozzá teljes tápfolyadékot a tripszin/EDTA inaktiválásához, óvatosan szuszpendáljuk újra a sejteket, és a sejtszuszpenzió egy aliquotáját helyezzük át egy új, friss tápfolyadékot tartalmazó tenyésztőedénybe. Helyezze az edényt 37 °C-ra és 5%$_{CO2\text{-}ra}$ beállított inkubátorba, és 2-3 naponta cserélje a tápfolyadékot.
Split ratio	1–5
Seeding density	2–5 x 10^4 sejt/cm^2
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Post-Thaw Recovery	A felolvasztás után osszuk a sejteket 1:2-1:3 arányban T25 lombikokba, és hagyjuk, hogy a sejtek legalább 24 órán keresztül regenerálódjanak a fagyasztásból és megtapadjanak (adhezív kultúrák esetén).
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

CHO-CTLA4 sejtek | 305414

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.