

Cellule CHO-B7H3 | 305417

Informazioni generali

Description

Disclaimer: i prezzi indicati per le linee cellulari sono destinati esclusivamente a clienti no-profit. Se rappresentate un'entità commerciale, contattateci per ottenere prezzi alternativi.

La linea cellulare CHO-B7H3 è una linea cellulare ricombinante stabile CHO (Chinese Hamster Ovary) ingegnerizzata per esprimere il recettore B7-H3 a un livello elevato, circa 430.000 molecole per cellula. Questa linea cellulare è stata sviluppata utilizzando l'innovativa tecnologia landing pad, che garantisce un'integrazione precisa e riproducibile del gene B7-H3 in un locus genomico specifico e pre-validato. B7-H3, noto anche come CD276, è un membro della famiglia B7 delle proteine del checkpoint immunitario ed è sovraespresso in vari tipi di cancro. Svolge un ruolo critico nell'evasione immunitaria da parte delle cellule tumorali ed è associato a una prognosi sfavorevole nei pazienti oncologici. Ciò rende B7-H3 un bersaglio promettente per l'immunoterapia del cancro, in particolare per lo sviluppo di inibitori del checkpoint e di coniugati anticorpo-farmaco.

L'espressione di B7-H3 in questa linea cellulare è stata confermata mediante citometria a flusso con un anticorpo specifico per il bersaglio, garantendo una densità recettoriale affidabile e coerente in tutta la popolazione cellulare.

Organism Criceto cinese

Tissue Ovaio

Caratteristiche

Age Adulti

Gender Donna

Morphology Simile all'epitelio

Growth properties Aderente/sospeso

Dati normativi

Citation CHO-B7H3 (catalogo Cytion numero 305417)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10029

Cellule CHO-B7H3 | 305417

GMO Status GMO-S1: questa linea CHO contiene un costrutto di espressione di B7-H3 umano per studi sui recettori immunitari. Questa classificazione si applica solo in Germania e può variare altrove.

Dati biomolecolari

Receptors expressed B7H3 (CD276)

Manipolazione

Culture Medium Per colture aderenti: DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 2,5 mM di L-Glutamina, w: 15 mM di HEPES, w: 0,5 mM di Sodio piruvato, w: 1,2 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820400a)
Per colture in sospensione: CHO Growth Medium A (da InSCREENeX; numero di catalogo InSCREENeX INS-ME-1039)

Supplements Per colture aderenti: Integrare il terreno di coltura con il 5% di FBS. Aggiungere Geneticina (G418-Sulfat) per ottenere una concentrazione finale di 0,5 mg/mL.

Dissociation Reagent Per colture aderenti: Tripsina-EDTA

Subculturing Per la coltura di routine di cellule aderenti: Aspirare il vecchio terreno di coltura dalle cellule aderenti e lavarle con PBS per rimuovere il terreno residuo. Dopo aver aspirato il PBS, aggiungere il volume appropriato di soluzione di tripsina/EDTA in base alle dimensioni del recipiente di coltura (ad esempio, 1 ml per una fiasca T25, 3 ml per una fiasca T75) e incubare a temperatura ambiente o a 37°C per 5-10 minuti, o finché le cellule non si staccano. Monitorare il distacco al microscopio e, se necessario, picchiettare delicatamente il contenitore per liberare le cellule. Una volta staccate, aggiungere terreno completo per inattivare la tripsina/EDTA, risospendere delicatamente le cellule e trasferire un'aliquota della sospensione cellulare in un nuovo recipiente di coltura contenente terreno fresco. Porre il recipiente in un incubatore a 37°C con il 5% di CO₂ e cambiare il terreno ogni 2-3 giorni.

Split ratio Si raccomanda un rapporto di 1:2 per lo split iniziale dopo lo scongelamento. Per le colture di routine si consiglia un rapporto compreso tra 1:5 e 1:10.

Fluid renewal da 2 a 3 volte alla settimana

Post-Thaw Recovery Dopo lo scongelamento, dividere le cellule in un rapporto da 1:2 a 1:3 in fiasche T25 e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano (per le colture aderenti) per almeno 24 ore.

Cellule CHO-B7H3 | 305417

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospingere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Cellule CHO-B7H3 | 305417

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.