Product sheet

CHO-EPCAM ląstelės | 305974

Bendra informacija

Description	**Atsakomybės apribojimas: Nurodytos ląstelių linijų kainos taikomos tik akademiniams ir nekomerciniams klientams. Komercinėms įmonėms kaina yra apie 6 250 EUR.** **Jei atstovaujate komercinei įmonei arba nesate tikri, kuri kategorija jums taikoma, prašome susisiekti su mumis.** CHO-EPCAM ląstelės yra rekombinantiniai kinų žiurkėno kiaušidžių (CHO) ląstelės, modifikuotos taip, kad stabiliai ekspresuotų žmogaus epitelio ląstelių adhezijos molekulę (EpCAM; CD326/TACSTD1) – transmembraninį glikoproteiną, plačiai ekspresuojamą epitelio audiniuose ir labai sureguliuotą daugelyje iš epitelio kilusių vėžio formų. EpCAM dalyvauja ląstelių tarpusavio adhezijoje, proliferacijoje, diferenciacijoje ir signalizacijos keliuose, susijusiuose su naviko progresavimu ir metastazavimu. Stabilūs CHO-EPCAM modeliai dažniausiai kuriami siekiant užtikrinti kontroliuojamą ir atkartojamą EpCAM ekspresiją paviršiuje, kad juos būtų galima naudoti jungimosi, taikymo ir funkciniuose tyrimuose, susijusiuose su terapiniais antikūnais ir modifikuotomis imuninių ląstelių terapijomis. CHO-EPCAM ląstelės plačiai naudojamos onkologijoje ir transliaciniuose tyrimuose, kuriant ir charakterizuojant anti-EpCAM monokloninius antikūnus, antikūnų ir vaistų konjugatus, bispecifinius T ląstelių aktyviklius bei CAR-T arba CAR-NK ląstelių terapijas. Modelis yra ypač naudingas vertinant antigenui būdingą prisijungimo afinitetą, receptorių užimtumą, internalizacijos kinetiką, citotoksiškumą ir imuninių sinapsų susidarymą. Be to, šios ląstelės padeda kurti srauto citometrijos tyrimus, vykdyti didelio našumo atranką ir patvirtinti EpCAM nukreiptus vaizdinimo agentus ar diagnostines platformas. Kadangi CHO ląstelės pasižymi stabiliomis augimo savybėmis ir minimaliu endogeniniu daugelio žmogaus epitelio žymenų ekspresavimu, jos suteikia nuoseklų foną rekombinantinių antigenų ekspresijos tyrimams.
Organism	Kinų žiurkėnas
Tissue	Kiaušidės
Disease	Kinų žiurkėno kiaušidės, neoplazminės; genetiškai modifikuotos taip, kad ant jų paviršiaus būtų išreikštas EpCAM (CD326)
Applications	Antikūnų atranka; EpCAM taikinio terapijos kūrimas; ADCC/CDC tyrimai; epitelinių navikų tyrimai; srauto citometrija

Charakteristikos

Age	Suaugusiųjų
Gender	Moteris
Morphology	Į epitelį panašus

CHO-EPCAM ląstelės | 305974

Cell type	Kiaušidės epitelio ląstelė
Growth properties	Prigludęs / suspenduotas

Reguliavimo duomenys

Citation	CHO-EPCAM (Cytion katalogo numeris 305974)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10029
CellosaurusAccession	CVCL_D2TL
GMO Status	GMO-S1: Ši CHO ląstelių linija turi EpCAM ekspresijos kasetę, skirtą receptorių funkcijos tyrimams. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed	EpCAM (CD326)

Tvarkymas

Culture Medium	Adherentiškoms kultūroms: DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820400a) Suspensinėms kultūroms: CHO augimo terpė A (iš "InSCREENeX"; "InSCREENeX" katalogo numeris INS-ME-1039)
Supplements	Adherentiškoms kultūroms: Į terpę pridėkite 5% FBS. Pridėkite geneticino (G418-Sulfat), kad galutinė koncentracija būtų 0,5 mg/ml.
Dissociation Reagent	Adherentiškoms kultūroms: Trypsinas-EDTA
Doubling time	maždaug 14–16 valandų

CHO-EPCAM ląstelės | 305974

Subculturing	Įprastinėms adherentinėms ląstelių kultūroms: Kad pašalintumėte visą likusią terpę, iš adherentinių ląstelių išsiurbkite seną terpę ir nuplaukite jas PBS. Išsiurbę PBS, įpilkite reikiamą kiekį tripsino ir EDTA tirpalo, atsižvelgiant į kultūros indo dydį (pvz., 1 ml T25 kolbai, 3 ml T75 kolbai), ir inkubuokite kambario arba 37 °C temperatūroje 5-10 minučių arba tol, kol ląstelės atsiskirs. Stebėkite atsiskyrimą per mikroskopą ir, jei reikia, švelniai palieskite indą, kad ląstelės išsilaisvintų. Kai ląstelės atsiskiria, įpilkite pilną terpę, kad būtų inaktyvuotas tripsinas/EDTA, atsargiai reuspenduokite ląsteles ir perkelkite alikvotą ląstelių suspensijos į naują auginimo indą su šviežia terpe. Įstatykite indą į inkubatorių, kuriame nustatyta 37 °C temperatūra ir 5 %$_{CO2}$, o terpę keiskite kas 2-3 dienas.
Split ratio	1–5
Seeding density	2–5 x 10^4 ląstelės/cm^2
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Post-Thaw Recovery	Po atšildymo suskirstykite ląsteles santykiu 1:2-1:3 į T25 kolbas ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso bei sukibti (jei tai adherencinės kultūros) mažiausiai 24 valandas.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

CHO-EPCAM ląstelės | 305974

Thawing and Culturing Cells	1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra. 2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti. 3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis. 4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu. 5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite. 6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais. 7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą. 8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

CHO-EPCAM ląstelės | 305974

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.