

CHO-PDCD1 ląstelės | 305973

Bendra informacija

Description

Atsakomybės apribojimas: Nurodytos ląstelių linijų kainos taikomos tik akademiniam ir nekomerciniam klientams. Komercinėms įmonėms kaina yra apie 6 250 eurų.

Jei atstovaujate komercinei įmonei arba nesate tikri, kuri kategorija jums taikoma, prašome [sisiekti su mumis](#).

CHO-PDCD1 ląstelės yra rekombinacinės kinų žiurkėno kiaušidžių (CHO) ląstelės, modifikuotos taip, kad stabiliai ekspresuotų žmogaus programuotas ląstelių mirties baltymą 1 (PD-1; PDCD1/CD279) – slopinamąjį imuninio kontrolės punkto receptorių, randamą daugiausia aktyvuotose T ląstelėse, B ląstelėse ir kitose imuninių ląstelių grupėse. PD-1 yra I tipo transmembraninis baltymas, priklausantis imunoglobulino superšeimai, kuris veikia kaip kritinis imuninės tolerancijos reguliatorius, sąveikaujant su savo ligandais PD-L1 (CD274) ir PD-L2 (PDCD1LG2). Stabilūs PDCD1 ekspresuojantys CHO modeliai dažniausiai kuriami siekiant užtikrinti kontroliuojamą ir atkartojamą receptorių ekspresiją ląstelių pagrįstiems jungimosi ir funkciniam tyrimams.

CHO-PDCD1 ląstelės plačiai naudojamos imunoonkologijos ir terapinių antikūnų kūrimo procesuose, ypač kontrolės taškų inhibitorių antikūnų charakterizavimui, ligandų ir receptorių sąveikos tyrimams, afiniteto matavimams ir sruto citometrijos pagrįstiems atrankos tyrimams. Šios ląstelės taip pat tinka bispecifinių antikūnų, modifikuotų ligandų, CAR-T taikymo strategijų ir receptorių užimtumo tyrimų, susijusių su PD-1/PD-L1 signalizacijos ašimi, vertinimui. Kadangi CHO ląstelės pasižymi stipriais augimo požymiais, dideliu transfekcijos efektyvumu ir maža endogenine daugelio žmogaus imuninių receptorių ekspresija, jos suteikia aiškiai apibrėžtą foną rekombinantinio PD-1 biologijos ir terapinio taikymo tyrimams.

Organism Kinų žiurkėnas

Tissue Kiaušidės

Charakteristikos

Morphology | epitelį panašus

Growth properties Priglundęs / suspenduotas

Reguliavimo duomenys

Citation CHO-PDCD1 (Cytion katalogo numeris 305973)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10029

CHO-PDCD1 ląstelės | 305973

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed PDCD1/CD279

Tvarkymas

Culture Medium

Adherentiškomis 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

Adherentiškomis kultūroms: Į terpę pridėkite 5% FBS. Pridėkite geneticino (G418-Sulfat), kad galutinė koncentracija būtų 0,5 mg/ml.

Dissociation Reagent

Adherentiškomis kultūroms: Trypsinas-EDTA

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 perkeltkite 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.

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-PDCD1 ląstelės | 305973

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

CHO-PDCD1 ląstelės | 305973

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.