

CHO-NECTIN4 ląstelės | 305984

Bendra informacija

Description

Atsakomybės apribojimas: Nurodytos ląstelių linijų kainos galioja tik akademiniam ir nekomerciniam klientams. Komercinėms įmonėms kaina yra maždaug 6 250 €. Jei atstovaujate komercinei įmonei arba nesate tikri, kuri kategorija jums taikoma, prašome [susisiekti su mumis](#).

CHO-NECTIN4 ląstelės yra stabili rekombinuota kinų žiurkėno kiaušidžių (CHO) ląstelių linija, sukurta ekspresuoti žmogaus Nectin-4 (taip pat žinomą kaip PVRL4 arba poliomiolitito viruso receptoriui giminingą baltymą 4), I tipo transmembraninį baltymą, priklausantį nectinų šeimos ląstelių adhezijos molekulių grupei. „Nectin-4“ yra gerai žinomas su navikais susijęs antigenas, kurio perteklius pasireiškia daugelyje kietųjų navikų tipų, įskaitant šlapimo pūslės urotelialinę karcinomą, krūties vėžį, nedidelio ląstelių plaučių vėžį ir kasos vėžį, todėl jis yra kliniškai patvirtintas taikinyas antikūnų-vaistų konjugatams (ADC) ir kitiems tikslinės imunoterapijos preparatams. ADC „enfortumab vedotin“, kurio taikinyas yra Nectin-4, yra patvirtintas urotelialinės karcinomos gydymui, o tai pabrėžia šio antigeno terapinę svarbą.

CHO-NECTIN4 ląstelės plačiai naudojamos Nectin-4 nukreiptų antikūnų, ADC, bispecifinių antikūnų ir CAR-T ląstelių terapijų kūrimui ir charakterizavimui. Stabili rekombinantinė ekspresijos sistema leidžia atlikti kiekybinius prisijungimo tyrimus, ADCC/CDC citotoksiškumo vertinimus, receptorių internalizacijos tyrimus ir didelio našumo antikūnų atranką srauto citometrijos metodu. CHO ląstelių fonas užtikrina žemą endogeninę daugumos žmogaus paviršiaus antigenų ekspresiją, todėl galima būti tikriems, kad stebimi signalai yra susiję su stabiliai ekspresuojamu Nectin-4 transgenu. Ši ląstelių linija yra patvirtinta naudoti vaistų atradimo procesuose, ikiklinikinių kandidatų atrankoje ir Nectin-4 receptoriaus biologijos mechanizmų tyrimuose.

Organism

Kinų žiurkėnas

Tissue

Kiaušidės

Disease

Kinų žiurkėno kiaušidės, neoplazminės; genetiškai modifikuotos, kad paviršiuje būtų ekspresuojamas NECTIN4 (PVRL4)

Applications

Antikūnų atranka; ADC kūrimas; NECTIN4 taikinio terapijos kūrimas; urotelialinio ir krūties vėžio tyrimai; srauto citometrija

Charakteristikos

Age

Suaugusiųjų

Gender

Moteris

Morphology

Į epitelį panašus

Cell type

Epitelio ląstelės

CHO-NECTIN4 ląstelės | 305984

Growth properties Prigludęs / suspenduotas

Reguliavimo duomenys

Citation CHO-NECTIN4 (Cytion katalogo numeris 305984)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10029

CellosaurusAccession CVCL_A8W9

GMO Status GMO-S1: Ši CHO ląstelių linija turi NECTIN4 ekspresijos kasetę, skirtą receptorių funkcijos tyrimams. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Surface antigens NECTIN4 (PVRL4/CD112R)

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)
Suspendinėms 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-NECTIN4 ląstelės | 305984

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 10⁴ ląstelės/cm²

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-NECTIN4 ląstelės | 305984

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 perkelti 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 perkelti 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 perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

CHO-NECTIN4 ląstelės | 305984

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.