

## CHO-NECTIN4 šūnas | 305984

## Vispārīga informācija

## Description

**Atbrīvojums no atbildības: Šeit norādītās šūnu līniju cenas attiecas vienīgi uz akadēmiskajiem/bezpeļņas klientiem. Komerciālām organizācijām cena ir aptuveni 6 250 eiro. Ja pārstāvat komerciālu organizāciju vai neesat pārliecināts, kura kategorija uz jums attiecas, lūdzu, [sazinieties ar mums](#).**

CHO-NECTIN4 šūnas ir stabila rekombinanta Ķīnas kāmjā olnīcu (CHO) šūnu līnija, kas izveidota, lai ekspresētu cilvēka Nectin-4 (pazīstams arī kā PVRL4 vai poliovīrusa receptora saistītais proteīns 4) — I tipa transmembrānas proteīnu, kas pieder pie nectīnu ģimenes šūnu adhezijas molekulām. Nectin-4 ir labi izpētīts ar audzēju saistīts antigēns, kas tiek pārmērīgi ekspresēts daudzu veidu cietajos audzējos, tostarp urotheliālajā urīnpūšļa karcinomā, krūts vēzī, nesīkšūnu plaušu vēzī un aizkuņģa dziedzera vēzī, tādējādi padarot to par klīniski apstiprinātu mērķi antivielu-zāļu konjugātiem (ADC) un citiem mērķtiecīgiem imūnterapijas līdzekļiem. ADC enfortumab vedotin, kas vērsts pret Nectin-4, ir apstiprināts urotheliālās karcinomas ārstēšanai, kas uzsver šī antigēna terapeitisko nozīmi.

CHO-NECTIN4 šūnas plaši izmanto Nectin-4 vērstu antivielu, ADC, bispecifisko antivielu un CAR-T šūnu terapiju izstrādei un raksturošanai. Stabīlā rekombinantā ekspresijas sistēma atbalsta kvantitatīvus saistīšanās testus, ADCC/CDC citotoksicitātes novērtējumus, receptoru internalizācijas pētījumus un augstas caurlaidspējas antivielu skrīningu, izmantojot plūsmas citometriju. CHO šūnu fons nodrošina zemu endogēno ekspresiju lielākajai daļai cilvēka virsmas antigēnu, garantējot, ka novērotie signāli ir attiecināmi uz stabili ekspresēto Nectin-4 transgēnu. Šī šūnu līnija ir validēta izmantošanai zāļu atklāšanas darba plūsmās, pirmsklīnisko kandidātu atlasē un Nectin-4 receptora bioloģijas mehānismu pētījumos.

## Organism

Ķīniešu kāmis

## Tissue

Olnīcas

## Disease

Ķīniešu kāmjā olnīca, bez audzēja; ģenētiski modificēta NECTIN4 (PVRL4) virsmas ekspresijai

## Applications

Antivielu skrīnings; ADC izstrāde; uz NECTIN4 vērsta terapijas izstrāde; urotheliālā/krūts vēža pētījumi; plūsmas citometrija

## Raksturojums

## Age

Pieaugušo

## Gender

Sievietes

## Morphology

Epitēlijveidīgs

## Cell type

Epitēlija šūnas

## CHO-NECTIN4 šūnas | 305984

**Growth properties** Pielipšana/suspensija

**Normatīvie dati**

**Citation** CHO-NECTIN4 (Cytion kataloga numurs 305984)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10029

**CellosaurusAccession** CVCL\_A8W9

**GMO Status** GMO-S1: Šī CHO šūnu līnija satur NECTIN4 ekspresijas kaseti, kas ļauj veikt receptora funkcijas analīzes. Šī klasifikācija ir spēkā tikai Vācijā un citās valstīs tā var atšķirties.

**Biomolekulārie dati**

**Surface antigens** NECTIN4 (PVRL4/CD112R)

**Darbs ar**

**Culture Medium** Pielipušām kultūrām: DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

Suspensijas kultūrām: CHO augšanas barotne A (no InSCREENeX; InSCREENeX kataloga numurs INS-ME-1039)

**Supplements** Pielipušām kultūrām: Pievienojiet barotni ar 5% FBS. Pievienojiet ģenētiku (G418-Sulfat), lai sasniegtu 0,5 mg/ml galīgo koncentrāciju.

**Dissociation Reagent** Pielipušām kultūrām: Tripsīns-EDTA

**Doubling time** aptuveni 14–16 stundas

**CHO-NECTIN4 šūnas | 305984**

**Subculturing** Parastai adherentu šūnu kultūrai: Lai noņemtu atlikušo barotni, aspirējiet veco barotni no pielipušajām šūnām un izskalojiet tās ar PBS, lai noņemtu atlikušo barotni. Pēc PBS atsūkņēšanas pievienojiet atbilstošu tripsīna/EDTA šķīduma tilpumu atkarībā no kultūras trauka lieluma (piemēram, 1 ml T25 kolbai, 3 ml T75 kolbai) un inkubējiet istabas temperatūrā vai 37 °C 5 līdz 10 minūtes vai līdz šūnu atdalīšanai. Novērot atdalīšanos ar mikroskopu un, ja nepieciešams, viegli piesitiet trauku, lai atbrīvotu šūnas. Pēc atdalīšanās pievienot pilnu barotni, lai inaktivētu tripsīnu/EDTA, uzmanīgi resuspendēt šūnas un šūnu suspensijas alikvotu pārvietot jaunā barotnē ar svaigu barotni. Ievietot trauku inkubatorā, kas iestatīts 37 °C temperatūrā ar 5 %  $\text{CO}_2$ , un ik pēc 2-3 dienām mainīt barotni.

**Split ratio** no 1 līdz 5

**Seeding density** 2 līdz  $5 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas sadaliet šūnas T25 kolbās proporcijā 1:2 līdz 1:3 un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un salipt (adhēzijas kultūrām) vismaz 24 stundas.

**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

## CHO-NECTIN4 šūnas | 305984

### Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

## CHO-NECTIN4 šūnas | 305984

### **Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.