

Komórki CHO-PDCD1 | 305973

Informacje ogólne

Description

Zastrzeżenie: Podane ceny linii komórkowych dotyczą wyłącznie klientów akademickich lub organizacji non-profit. Dla podmiotów komercyjnych cena wynosi około 6 250 euro.

Jeśli reprezentujesz podmiot komercyjny lub nie masz pewności, która kategoria ma zastosowanie, prosimy o [kontakt](#).

Komórki CHO-PDCD1 to rekombinowane komórki jajnika chomika chińskiego (CHO), zmodyfikowane tak, aby stabilnie wyrażały ludzkie białko programowanej śmierci komórkowej 1 (PD-1; PDCD1/CD279), hamujący receptor punktu kontrolnego układu odpornościowego występujący głównie na aktywowanych komórkach T, komórkach B i innych podgrupach komórek odpornościowych. PD-1 jest białkiem transbłonowym typu I należącym do nadrodziny immunoglobulin i pełni funkcję kluczowego regulatora tolerancji immunologicznej poprzez interakcję ze swoimi ligandami PD-L1 (CD274) i PD-L2 (PDCD1LG2). Modele komórek CHO stabilnie wyrażające PDCD1 są powszechnie opracowywane w celu zapewnienia kontrolowanej i powtarzalnej ekspresji receptora do testów wiązania i testów funkcjonalnych opartych na komórkach.

Komórki CHO-PDCD1 są szeroko stosowane w procesach rozwoju immuno-onkologii i przeciwciał terapeutycznych, w szczególności do charakterystyki przeciwciał inhibitorów punktów kontrolnych, badań interakcji ligand-receptor, pomiarów powinowactwa oraz testów przesiewowych opartych na cytometrii przepływowej. Komórki te nadają się również do oceny przeciwciał bispecyficznych, modyfikowanych ligandów, strategii celowania CAR-T oraz testów zajętości receptorów z udziałem osi sygnałowej PD-1/PD-L1. Ponieważ komórki CHO wykazują silne właściwości wzrostowe, wysoką wydajność transfekcji oraz niską endogenną ekspresję wielu ludzkich receptorów immunologicznych, zapewniają one dobrze zdefiniowane tło do badania biologii rekombinowanego PD-1 i celowania terapeutycznego.

Organism

Chiński chomik

Tissue

Jajnik

Disease

Komórki jajnika chomika chińskiego, nienowotworowe; zmodyfikowane genetycznie w celu ekspresji PD-1 (PDCD1/CD279) na powierzchni komórki

Applications

Badania przesiewowe w kierunku przeciwciał; opracowywanie immunoterapii ukierunkowanej na PD-1; badania nad inhibitorami punktów kontrolnych; biologia komórek T; cytometria przepływowa

Charakterystyka

Age

Dorosły

Gender

Kobieta

Morphology

Podobny do nabłonka

Komórki CHO-PDCD1 | 305973**Cell type** Komórki nabłonkowe**Growth properties** Przyleganie/zawieszenie**Dane regulacyjne****Citation** CHO-PDCD1 (nr katalogowy Cytion 305973)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10029**CellosaurusAccession** CVCL_A8X0**GMO Status** GMO-S1: Ta linia komórkowa CHO zawiera kasetę ekspresyjną PDCD1, umożliwiającą przeprowadzanie analiz funkcji receptora. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może się różnić w innych krajach.**Dane biomolekularne****Receptors expressed** PDCD1/CD279**Obsługa****Culture Medium**
Dla hodowli adherentnych: DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820400a)
Dla hodowli zawieszinowych: CHO Growth Medium A (od InSCREENeX; numer katalogowy InSCREENeX INS-ME-1039)**Supplements** Dla hodowli przylegających: Uzupełnić pożywkę 5% FBS. Dodać Geneticin (G418-Sulfat), aby osiągnąć końcowe stężenie 0,5 mg/ml.**Dissociation Reagent** Dla kultur przylegających: Trypsyna-EDTA**Doubling time** ok. 14–16 godzin

Komórki CHO-PDCD1 | 305973

Subculturing	W przypadku rutynowej hodowli komórek przylegających: Odessać starą pożywkę z przylegających komórek i przemyć je PBS w celu usunięcia pozostałości pożywki. Po odessaniu PBS, dodać odpowiednią objętość roztworu Trypsyna/EDTA w zależności od rozmiaru naczynia hodowlanego (np. 1 ml dla kolby T25, 3 ml dla kolby T75) i inkubować w temperaturze pokojowej lub 37°C przez 5-10 minut lub do momentu odłączenia się komórek. Monitoruj oderwanie pod mikroskopem i delikatnie postukaj w naczynie, jeśli to konieczne, aby uwolnić komórki. Po odłączeniu dodać pełną pożywkę w celu inaktywacji trypsyny/EDTA, delikatnie ponownie zawiesić komórki i przenieść porcję zawiesiny komórek do nowego naczynia hodowlanego zawierającego świeżą pożywkę. Umieścić naczynie w inkubatorze ustawionym na 37°C z 5% _{CO2} i zmieniać pożywkę co 2-3 dni.
Split ratio	od 1 do 5
Seeding density	2 do 5 x 10 ⁴ komórek/cm ²
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu rozdzielić komórki w stosunku 1:2 do 1:3 w kolbach T25 i pozwolić komórkom na regenerację po procesie zamrażania i przyleganie (w przypadku hodowli adherentnych) przez co najmniej 24 godziny.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki CHO-PDCD1 | 305973

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Komórki CHO-PDCD1 | 305973

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.