

Komórki CHO-NECTIN4 | 305984**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, [skontaktuj się z nami](#).

Komórki CHO-NECTIN4 to stabilna rekombinowana linia komórkowa pochodząca z jajników chomika chińskiego (CHO), zmodyfikowana genetycznie w celu ekspresji ludzkiej Nectin-4 (znanej również jako PVRL4 lub białko 4 związane z receptorem poliovirusa), białka transbłonowego typu I należącego do rodziny nektyn – cząsteczek adhezyjnych komórek. Nektin-4 jest dobrze znanym antygenem związanym z nowotworami, który ulega nadekspresji w wielu typach nowotworów litych, w tym w raku urotelialnym pęcherza moczowego, raku piersi, niedrobnokomórkowym raku płuca oraz raku trzustki, co czyni ją klinicznie zweryfikowanym celem dla koniugatów przeciwciał z lekami (ADC) i innych ukierunkowanych immunoterapii. Koniugat przeciwciało-lek (ADC) o nazwie enfortumab vedotin, którego celem jest Nectin-4, został zatwierdzony do leczenia raka urotelialnego, co podkreśla terapeutyczne znaczenie tego antygeny.

Komórki CHO-NECTIN4 są szeroko stosowane do opracowywania i charakteryzowania przeciwciał skierowanych przeciwko Nectin-4, koniugatów przeciwciało-lek (ADC), przeciwciał bispecyficznych oraz terapii komórkami CAR-T. Ten stabilny system ekspresji rekombinowanej umożliwia przeprowadzanie ilościowych testów wiązania, ocen cytotoksyczności ADCC/CDC, badań internalizacji receptorów oraz wysokoprzepustowego przesiewania przeciwciał za pomocą cytometrii przepływowej. Tło komórkowe CHO charakteryzuje się niskim poziomem endogennej ekspresji większości ludzkich antygenów powierzchniowych, co gwarantuje, że obserwowane sygnały wynikają ze stabilnie ekspresjonowanego transgeny Nectin-4. Linia komórkowa została zatwierdzona do stosowania w procesach odkrywania leków, przedklinicznej selekcji kandydatów oraz badaniach mechanistycznych dotyczących biologii receptora Nectin-4.

Organism

Chiński chomik

Tissue

Jajnik

Disease

Komórki jajnika chomika chińskiego, nienowotworowe; zmodyfikowane genetycznie w celu ekspresji białka NECTIN4 (PVRL4) na powierzchni komórkowej

Applications

Badania przesiewowe przeciwciał; opracowywanie leków ADC; opracowywanie terapii ukierunkowanych na NECTIN4; badania nad rakiem urotelialnym i rakiem piersi; cytometria przepływowa

Charakterystyka**Age**

Dorosły

Gender

Kobieta

Morphology

Podobny do nabłonka

Komórki CHO-NECTIN4 | 305984**Cell type** Komórki nabłonkowe**Growth properties** Przyleganie/zawieszenie**Dane regulacyjne****Citation** CHO-NECTIN4 (numer katalogowy Cytion 305984)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10029**CellosaurusAccession** CVCL_A8W9**GMO Status** GMO-S1: Ta linia komórkowa CHO zawiera kasetę ekspresyjną NECTIN4, umożliwiającą przeprowadzanie analiz funkcji receptora. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może różnić się w innych krajach.**Dane biomolekularne****Surface antigens** NECTIN4 (PVRL4/CD112R)**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 zawieszonych: CHO Growth Medium A (od InSCREENeX; numer katalogowy InSCREENeX INS-ME-1039)**Supplements** Dla hodowli przylegających: Uzuppełnić 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-NECTIN4 | 305984

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 wielkości 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. Umieść naczynie w inkubatorze ustawionym na 37°C z 5%_{CO2} i zmieniaj pożywkę co 2-3 dni.

Split ratio od 1 do 5

Seeding density 2 do 5 x 10⁴ komórek/cm²

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-NECTIN4 | 305984**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-NECTIN4 | 305984

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone 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.