Product sheet

Células CHO-EPCAM | 305974

Informações gerais

Description	**Aviso legal: Os preços apresentados para as linhas celulares destinam-se exclusivamente a clientes do setor académico ou sem fins lucrativos. Para entidades comerciais, o preço é de aproximadamente 6 250 €.** **Se representar uma entidade comercial ou não tiver a certeza de qual a categoria a que se enquadra, por favor contacte-nos.** As células CHO-EPCAM são células recombinantes de ovário de hamster chinês (CHO) modificadas para expressar de forma estável a molécula de adesão celular epitelial humana (EpCAM; CD326/TACSTD1), uma glicoproteína transmembranar amplamente expressa em tecidos epiteliais e altamente regulada positivamente em muitos cancros de origem epitelial. A EpCAM está envolvida na adesão célula-célula, proliferação, diferenciação e vias de sinalização associadas à progressão tumoral e metástase. Modelos CHO-EPCAM estáveis são comumente gerados para fornecer expressão superficial controlada e reproduzível de EpCAM para uso em ensaios de ligação, direcionamento e funcionais envolvendo anticorpos terapêuticos e terapias com células imunes modificadas. As células CHO-EPCAM são amplamente utilizadas em oncologia e na investigação translacional para o desenvolvimento e caracterização de anticorpos monoclonais anti-EpCAM, conjugados anticorpo-fármaco, ativadores bispecíficos de células T e terapias com células CAR-T ou CAR-NK. O modelo é particularmente útil para avaliar a afinidade de ligação específica do antígeno, a ocupação do recetor, a cinética de internalização, a citotoxicidade e a formação de sinapses imunitárias. Além disso, estas células permitem o desenvolvimento de ensaios de citometria de fluxo, o rastreio de alto rendimento e a validação de agentes de imagem ou plataformas de diagnóstico direcionados para o EpCAM. Como as células CHO apresentam características de crescimento estáveis e uma expressão endógena mínima de muitos marcadores epiteliais humanos, proporcionam um contexto consistente para estudos de expressão de antígenos recombinantes.
Organism	Hamster chinês
Tissue	Ovário
Disease	Ovário de hamster chinês, não neoplásico; geneticamente modificado para a expressão de EpCAM (CD326) na superfície
Applications	Rastreio de anticorpos; desenvolvimento de terapias direcionadas para a EpCAM; ensaios ADCC/CDC; investigação sobre tumores epiteliais; citometria de fluxo

Caraterísticas

Age	Adulto
Gender	Feminino

Product sheet

Células CHO-EPCAM | 305974

Morphology	De tipo epitelial
Cell type	Célula epitelial do ovário
Growth properties	Aderente/suspensão

Dados regulamentares

Citation	CHO-EPCAM (número de catálogo da Cytion 305974)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10029
CellosaurusAccession	CVCL_D2TL
GMO Status	GMO-S1: Esta linha celular CHO contém uma cassete de expressão de EpCAM que permite a realização de análises da função do recetor. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Receptors expressed	EpCAM (CD326)

Manuseamento

Culture Medium	Para culturas aderentes: DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3.1 g/L Glucose, w: 2.5 mM L-Glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 0.5 mM Piruvato de sódio, w: 1.2 g/L NaHCO3 (Cytion artigo número 820400a) Para culturas em suspensão: CHO Growth Medium A (da InSCREENeX; número de catálogo da InSCREENeX INS-ME-1039)
Supplements	Para culturas aderentes: Suplementar o meio com 5% de FBS. Adicionar Geneticin (G418-Sulfat) para obter uma concentração final de 0,5 mg/mL.
Dissociation Reagent	Para culturas aderentes: Tripsina-EDTA
Doubling time	aprox. 14-16 horas

Células CHO-EPCAM | 305974

Subculturing	Para cultura de rotina de células aderentes: Aspirar o meio de cultura antigo das células aderentes e lavá-las com PBS para remover qualquer meio restante. Depois de aspirar o PBS, adicionar o volume adequado de solução de tripsina/EDTA com base no tamanho do recipiente de cultura (por exemplo, 1 ml para um frasco T25, 3 ml para um frasco T75) e incubar à temperatura ambiente ou a 37°C durante 5-10 minutos, ou até as células se destacarem. Monitorizar o desprendimento sob um microscópio e, se necessário, bater suavemente no recipiente para libertar as células. Uma vez desprendidas, adicionar meio completo para inativar a tripsina/EDTA, ressuspender suavemente as células e transferir uma alíquota da suspensão de células para um novo recipiente de cultura contendo meio fresco. Colocar o recipiente numa incubadora regulada para 37°C com 5% $_{de\ CO2}$ e mudar o meio a cada 2-3 dias.
Split ratio	1 a 5
Seeding density	2 a 5 x 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Post-Thaw Recovery	Após a descongelação, dividir as células numa proporção de 1:2 a 1:3 em frascos T25 e deixar as células recuperar do processo de congelação e aderir (para culturas aderentes) durante pelo menos 24 horas.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células CHO-EPCAM | 305974

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.

2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.

3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.

4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.

5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.

6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.

7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.

8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility	A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.