

Células CHO-PDCD1 | 305973

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-PDCD1 são células recombinantes de ovário de hamster chinês (CHO) modificadas para expressar de forma estável a proteína 1 da morte celular programada humana (PD-1; PDCD1/CD279), um recetor inibidor do ponto de controlo imunitário encontrado principalmente em células T ativadas, células B e outros subconjuntos de células imunitárias. A PD-1 é uma proteína transmembranar do tipo I pertencente à superfamília das imunoglobulinas e funciona como um regulador crítico da tolerância imunitária através da interação com os seus ligantes PD-L1 (CD274) e PD-L2 (PDCD1LG2). Modelos CHO que expressam PDCD1 de forma estável são frequentemente desenvolvidos para proporcionar uma expressão controlada e reprodutível do recetor para ensaios de ligação e funcionais baseados em células.

As células CHO-PDCD1 são amplamente utilizadas em fluxos de trabalho de imuno-oncologia e desenvolvimento de anticorpos terapêuticos, particularmente para a caracterização de anticorpos inibidores de pontos de controlo, estudos de interação ligando-receptor, medições de afinidade e ensaios de triagem baseados em citometria de fluxo. Estas células também são adequadas para a avaliação de anticorpos bispecíficos, ligantes modificados, estratégias de direcionamento CAR-T e ensaios de ocupação de recetores envolvendo o eixo de sinalização PD-1/PD-L1. Uma vez que as células CHO apresentam características de crescimento robustas, elevada eficiência de transfecção e baixa expressão endógena de muitos recetores imunitários humanos, proporcionam um contexto bem definido para o estudo da biologia do PD-1 recombinante e do direcionamento terapêutico.

Organism

Hamster chinês

Tissue

Ovário

Disease

Ovário de hamster chinês, não neoplásico; geneticamente modificado para a expressão de PD-1 (PDCD1/CD279) na superfície

Applications

Rastreio de anticorpos; desenvolvimento de imunoterapias direcionadas ao PD-1; investigação sobre inibidores de pontos de controlo; biologia das células T; citometria de fluxo

Caraterísticas

Age

Adulto

Gender

Feminino

Células CHO-PDCD1 | 305973**Morphology** De tipo epitelial**Cell type** Células epiteliais**Growth properties** Aderente/suspensão**Dados regulamentares****Citation** CHO-PDCD1 (número de catálogo Cytion 305973)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10029**CellosaurusAccession** CVCL_A8X0**GMO Status** GMO-S1: Esta linha celular CHO contém uma casete de expressão de PDCD1 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** PDCD1/CD279**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-PDCD1 | 305973

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 CO ₂ 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 otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células CHO-PDCD1 | 305973

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, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado 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 $300 \times g$ 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% CO_2 , 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.

Células CHO-PDCD1 | 305973

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.