



hCAR·EphA2-GFP-T Cell

一、产品信息

产品编号	产品名称	产品规格
VGT-1969-18C6	hCAR·EphA2-GFP- T 细胞	1 × 10 ⁷ 细胞

二、产品介绍

Generation	Second
Receptor Construction	Anti EphA2 scFv (4H5)·hCD28·hCD3ζ
Marker	CAR-2A-GFP
Vector Type/Length	Retrovirus / 9 kb
Description of Signaling Cassettes	<p>CD28:</p> <p>CD28 (Cluster of Differentiation 28) is one of the proteins expressed on T cells that provide co-stimulatory signals required for T cell activation and survival. CD28 is the receptor for CD80 (B7.1) and CD86 (B7.2) proteins which are expressed on antigen-presenting cells(APC). CD28 modulates the primary TCR/CD3ζ signal in a different fashion than the late costimulatory elements OX40 and 4-1BB. CD28 enhances the expression of downstream regulators that impact on T-cell proliferation, death, differentiation, and effector functions. CART cells containing the CD28 endodomain showed strikingly enhanced sustained T cell activation, growth, survival. And CD28 results in a brightly expressed, stable receptor as the transmembrane domain. Including CD28 costimulatory domains in CARs led to enhanced anti-malignancy efficacy.</p>





维根生物科技有限公司

Vigen Biotechnology (Zhenjiang) Co., Ltd

VigenCAR®

Tel: 183 628 99236

E-mail: 253540644@qq.com

	<p>CD3ζ:</p> <p>CD3ζ, also known as T-cell receptor zeta, which together with T-cell receptor and CD3γ, δ, ε chain, forms the TCR-CD3 complex. ζ was expressed independently from the complex. The zeta chain plays an important role in coupling antigen recognition to several intracellular signal-transduction pathways. CD3-zeta, which contains 3 ITAMs, is the most commonly used endodomain component of CARs. It transmits an activation signal to the T cell after antigen is bound. CD3-zeta may not provide a fully competent activation signal and additional co-stimulatory signaling is needed. For example, chimeric CD28 and OX40 can be used with CD3-zeta to transmit a proliferative/survival signal, or all three can be used together.</p>
Effector cell type	T cell (human)
Target	Homo sapiens EPH receptor A2 (EphA2)
Synonyms	ARCC2; CTPA; CTPP1; CTRCT6; ECK
Target Gene ID	1969
Targeting Diseases	Hepatocellular Carcinoma (HCC), Lung Cancer, etc

三、产品组分

组分编号	组分名称	产品规格
VGT-1969-18C6	hCAR·EphA2-GFP-T 细胞	1 × 10 ⁷ 细胞
VGT-0000-18A4	GFP-hATC 细胞 (仅表达 GFP)	1 × 10 ⁷ 细胞
VGA-0013-0100	人 T 细胞完全培养基	100 mL
VGA-0036-0200	重组人 IL-2 溶液 (1000x)	100 μL



www.vigenbio.com



Technical Support

运输与保存:

干冰运输。收到后如不立即复苏, 请立即转入-80°C 保存或液氮储存。

四、细胞质检

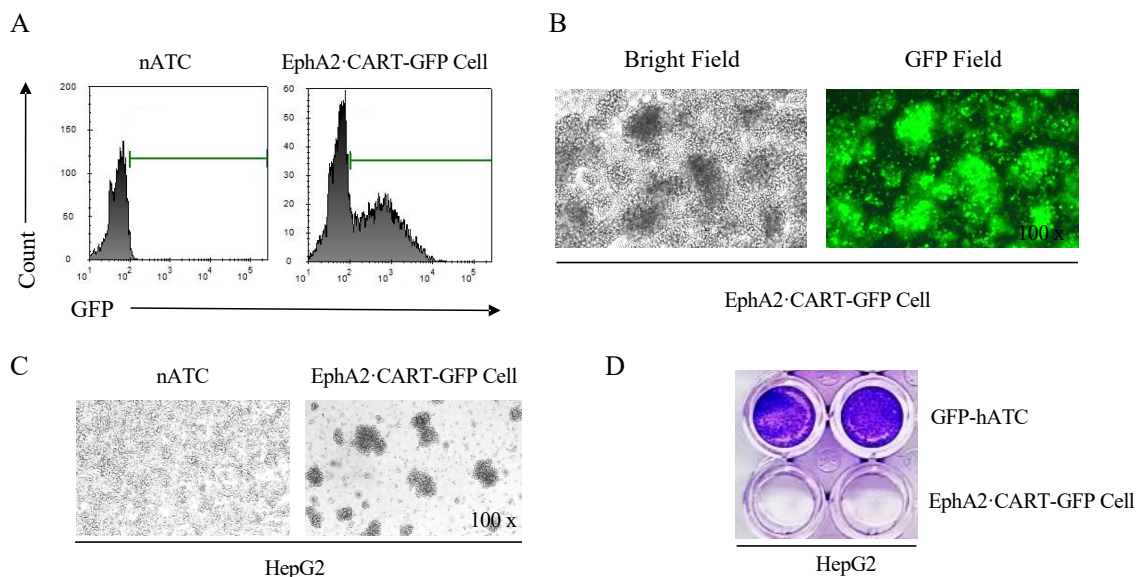


Fig.1 CART 细胞转导率检测

A、FACS 检测 CART 细胞的 GFP 阳性率; B、荧光显微镜检测 CART 细胞 GFP 表达; C、显微镜检测 EphA2-CART 细胞对 EphA2 阳性的 HepG2 靶细胞杀伤作用 (E: T = 2: 1, 共培养 24 h); D、结晶紫染色检测 EphA2-CART 细胞对靶细胞 HepG2 杀伤作用 (E: T = 2: 1, 共培养 24 h)。

说明: 由于 Doner 不同, 批次 CART 细胞阳性率和增殖能力有差别。实际阳性率以出库质检数据为准。

五、细胞到货处理

1、干冰运输细胞复苏与培养

a) 将细胞从干冰中取出后立即置于 37 °C 水浴, 轻轻转动冻存管, 直至管内细胞完全融化 (最好在 1 ~ 2 min 内解冻)。

b) 将冻存管转移到超净工作台, 用 75 % 酒精彻底消毒冻存管。

c) 将解冻细胞转移到 15 mL 无菌离心管, 500 g, 室温离心 5 min。

d) 弃细胞冻存液, 用 CART 细胞完全培养 (VGA-0013-0100) 基重悬细胞沉淀,





维根生物科技有限公司

Vigen Biotechnology (Zhenjiang) Co., Ltd

VigenCAR®

Tel: 183 628 99236

E-mail: 253540644@qq.com

同时添加适量体积的 IL-2 (1000 ×, VGA-0036-001)。

e) 将细胞接种于合适的细胞培养皿或培养瓶, 然后置于 37 °C, 5 % CO₂ 培养箱培养。次日观察细胞形态, 如有异常现象, 例如污染, 细胞状态差等, 请拍照留证并及时与技术支持联系。

2、CART 细胞换液传代

a) 将需要换液传代的细胞和培养液转移至 15 mL 或 50 mL 无菌离心管, 400 ~ 500 g 室温离心 5 min, 弃上清液; 用 PBS 重悬细胞, 再次离心 5 min; 弃上清液, 用新鲜 CART 细胞完全培养基重悬细胞, 细胞密度调整为 2×10^6 /mL, 同时添加合适体积的 IL-2 (1000 ×, VGA-0036-001);

b) 将细胞接种于细胞培养瓶或培养皿, 置于 37 °C, 5 % CO₂ 培养箱培养。

3、CART 细胞冻存

收集细胞, 500 g, 离心 5 min, 弃上清液, 加入无血清冻存液 (VGA-0046-100) 轻轻悬浮细胞, 将细胞悬液转移至细胞冻存管, 然后立即将冻存管冻存于 -80 °C。

备注 1: CART 细胞的冻存密度为 $5 \sim 10 \times 10^6$ /mL;

备注 2: 为了提高 CART 细胞复苏效率, 请次日将 -80 °C 细胞转移至液氮保存。

六、限制性使用许可

- 1) 本产品仅供购买方单方使用, 不得向任何第三方赠送、转让或销售;
- 2) 本产品仅供实验室和体外研究使用, 不能用于任何临床检验、诊断、治疗, 或任何非法用途;
- 3) 收货 48 h 内如若发现异常, 请及时联系售后, 逾期视为收货良好;
- 4) 请严格按照本说明书操作, 否则造成细胞失活等情形, 不予提供补发服务。



www.vigenbio.com



Technical Support