Product sheet

Клетки HEK293-CLDN18.2 | 305986

Обща информация

Description	**Забележка: Посочените цени за клетъчните линии са валидни единствено за академични/нестопански клиенти. За търговски субекти цената е приблизително 6 250 евро. Ако представлявате търговски субект или не сте сигурни в коя категория попадате, моля свържете се с нас.** Клетките HEK293-CLDN18.2 са човешки ембрионални бъбречни клетки 293 (HEK293), модифицирани да експресират стабилно човешкия клаудин 18 изоформа 2 (CLDN18.2) – трансмембранен протеин, свързан с плътните съединения и принадлежащ към семейството на клаудините. CLDN18.2 е специфична за стомашната линия изоформа, която обикновено е ограничена до диференцирани епителни клетки на стомашната лигавица, където екстрацелуларните ѝ домени са до голяма степен недостъпни при физиологични условия. При злокачествена трансформация нарушаването на епителната полярност и архитектурата на плътните съединения излага CLDN18.2 на повърхността на туморните клетки, което води до неговата свръхекспресия и достъпност при няколко вида рак, включително стомашен аденокарцином, рак на гастроезофагеалния преход, рак на панкреаса и други злокачествени заболявания на стомашно-чревния тракт. Поради силно ограниченото си разпространение в нормалната тъкан и експозицията, свързана с тумора, CLDN18.2 се очертава като клинично важна терапевтична мишена в онкологията. Клетките HEK293-CLDN18.2 се използват широко за разработване и характеризиране на терапевтични средства, насочени към CLDN18.2, включително моноклонални антитела, конюгати на антитела с лекарства, биспецифични антитела, CAR-T и CAR-NK клетъчни терапии и целеви агенти за образна диагностика. Стабилната рекомбинантна експресионна система позволява количествен анализ на афинитета на свързване на антигена, специфичността на епитопа, плътността на рецепторите, кинетиката на интернализацията и целево-зависимата цитотоксичност. Тези клетки се използват често и в тестове с проточна цитометрия, репортерни тестове, работни процеси за скрининг на антитела и функционални изследвания на имунните ефектори, предназначени за оценка на антитяло-зависимата клетъчна цитотоксичност (ADCC) или комплемент-зависимата цитотоксичност (CDC). Тъй като HEK293 клетките поддържат стабилна рекомбинантна експресия на мембранни протеини и ефективно размножаване, те осигуряват надеждна платформа за стандартизирано разработване на тестове за CLDN18.2 и валидиране на терапевтични средства.
Organism	Човек
Tissue	Фетален бъбрек
Disease	Трансформиран/увековечен; нетуморогенен (на базата на HEK293)
Applications	Разработване на антитела, насочени срещу CLDN18.2, и ADC; CAR-T/CAR-NK клетъчна терапия; ADCC/CDC тестове; проточна цитометрия; терапевтични средства за рак на стомаха, гастро-езофагеалния преход и панкреаса

Характеристики

Клетки HEK293-CLDN18.2 | 305986

Age	Плод
Gender	Жена
Morphology	Подобни на епител
Cell type	Епителни клетки
Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation	HEK293-CLDN18.2 (каталожен номер на Cytion 305986)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E5J2
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия HEK293 съдържа конструкт за експресия на CLDN18.2, предназначен за изследвания на антигени на плътните съединения и разработване на целева терапия при рак. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Surface antigens	CLDN18.2
Receptors expressed	CDLN18.2

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS, 1 mM натриев пируват, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Добавете Geneticin (G418-Sulfat), за да достигнете крайна концентрация от 1 mg/ml.

Клетки HEK293-CLDN18.2 | 305986

Dissociation Reagent	Трипсин-EDTA
Doubling time	около 24–36 часа
Subculturing	За рутинни адхезивни клетъчни култури: Аспирирайте старата хранителна среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, за да отстраните останалата среда. След като аспирирате PBS, добавете подходящия обем разтвор на трипсин/EDTA в зависимост от размера на съда за култивиране (напр. 1 ml за колба T25, 3 ml за колба T75) и инкубирайте при стайна температура или 37 °C, докато клетките се отделят (5-10 минути). Наблюдавайте отделянето под микроскоп и при необходимост леко потупайте съда, за да освободите клетките. След като се отделят, добавете пълна среда, за да инактивирате трипсина/EDTA, внимателно ресуспендирайте клетките и прехвърлете аликвотна част от клетъчната суспензия в нов съд за култивиране, съдържащ прясна среда. Поставете съда в инкубатор, настроен на 37 °C с 5 $\%_{CO2}$, и сменяйте средата на всеки 2-3 дни.
Split ratio	от 1 до 5
Seeding density	2 до 4 x 10^{4} клетки/cm^{2}
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяването разделете клетките в съотношение 1:2 до 1:3 в колби T25 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да залепнат (за залепнали култури) за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HEK293-CLDN18.2 | 305986

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HEK293-CLDN18.2 | 305986

Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.