Product sheet

Клетки HEK293-GPRC5D | 305989

Обща информация

Description	**Забележка: Показаните цени за клетъчните линии са предназначени изключително 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-GPRC5D са човешки ембрионални бъбречни клетки 293 (HEK293), модифицирани да експресират стабилно човешкия G-протеин-свързан рецептор от семейство C, група 5, член D (GPRC5D) – орфанен рецептор, принадлежащ към семейството на G-протеин-свързаните рецептори от клас C. GPRC5D проявява силно ограничена експресия в нормалните тъкани, като преобладаваща експресия се наблюдава в космените фоликули, кератинизираните тъкани и плазмените клетки. Важно е да се отбележи, че рецепторът се експресира в голяма степен при множествена миелома и някои други злокачествени заболявания на плазмените клетки, където ограниченото му разпространение в нормалните тъкани и силната му експресия, свързана с тумора, го превръщат в значима мишена за разработване на имунотерапии, особено при пациенти с рецидив след терапии, насочени към BCMA. Клетките HEK293-GPRC5D се използват широко в изследванията в областта на хематологичната онкология и разработването на терапии за характеризиране на моноклонални антитела, насочени към GPRC5D, биспецифични Т-клетъчни ангажиращи агенти, конюгати на антитела и лекарства, както и CAR-T или CAR-NK клетъчни терапии. Стабилната рекомбинантна експресионна система позволява количествена оценка на афинитета на свързване с антигена, заетостта на рецептора, плътността на повърхностната експресия, специфичността на епитопа и зависимата от мишената цитотоксичност. Тези клетки са особено ценни за оценка на активността и селективността на инженерни имунни клетъчни терапии и биологични продукти за пренасочване на Т-клетки, насочени към GPRC5D-позитивни злокачествени заболявания. Допълнителните приложения включват разработване на тестове за проточна цитометрия, репортерни тестове, скрининг с висока производителност и валидиране на рецептор-специфични агенти за визуализация или диагностични реагенти.
Organism	Човек
Tissue	Фетален бъбрек
Disease	Трансформиран/увековечен; нетуморогенен (на базата на HEK293)
Applications	Разработване на антитела, насочени срещу GPRC5D, и биспецифични антитела; терапевтични средства за лечение на множествена миелома; CAR-T-клетъчна терапия; ADCC/CDC-тестове; проточна цитометрия; имуноонкологичен скрининг

Характеристики

Age	Плод
Gender	Жена

Клетки HEK293-GPRC5D | 305989

Morphology	Подобни на епител
Cell type	Епителни клетки
Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation	HEK293-GPRC5D (каталожен номер на Cytion 305989)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G25
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия HEK293 съдържа конструкт за експресия на GPRC5D, предназначен за изследвания на антигени при множествена миелома и разработване на целева терапия. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Receptors expressed	GPRC5D

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.
Dissociation Reagent	Трипсин-EDTA
Doubling time	около 24–36 часа

Клетки HEK293-GPRC5D | 305989

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-GPRC5D | 305989

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-GPRC5D | 305989

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.