

Buňky HEK293-GPRC5D | 305989

Obecné informace

Description

Upozornění: Ceny uvedené u buněčných linií platí výhradně pro akademické a neziskové zákazníky. Pro komerční subjekty činí cena přibližně 6 250 EUR.

Pokud zastupujete komerční subjekt nebo si nejste jisti, do které kategorie spadáte, prosím [nás kontaktujte](#).

Buňky HEK293-GPRC5D jsou buňky lidské embryonální ledviny 293 (HEK293) upravené tak, aby stabilně exprimovaly lidský receptor spřažený s G-proteinem ze skupiny C, člen 5, typ D (GPRC5D), což je sirotčí receptor patřící do rodiny receptorů spřažených s G-proteinem třídy C. GPRC5D vykazuje velmi omezenou expresi v normálních tkáních, přičemž převládající exprese byla zaznamenána ve vlasových folikulech, keratinizovaných tkáních a plazmatických buňkách. Důležité je, že tento receptor je vysoce exprimován u mnohočetného myelomu a některých dalších malignit plazmatických buněk, kde se díky jeho omezenému rozšíření v normálních tkáních a silné expresi spojené s nádorem stal významným cílem pro vývoj imunoterapie, zejména u pacientů s relapsem po terapiích zaměřených na BCMA.

Buňky HEK293-GPRC5D se široce používají ve výzkumu hematologické onkologie a ve vývoji léčiv k charakterizaci monoklonálních protilátek namířených proti GPRC5D, bispecifických T-buněčných engagerů, konjugátů protilátek a léčiv a terapií CAR-T nebo CAR-NK buňkami. Stabilní rekombinantní expresní systém umožňuje kvantitativní hodnocení afinity vazby antigenu, obsazení receptoru, hustoty povrchové exprese, specificity epitopu a cytotoxicity závislé na cíli. Tyto buňky jsou obzvláště cenné pro hodnocení aktivity a selektivity inženýrských terapií imunitními buňkami a biologických přípravků přesměrovávajících T-buňky, které se zaměřují na GPRC5D-pozitivní malignity. Mezi další aplikace patří vývoj testů průtokové cytometrie, reportérové testy, screening s vysokou propustností a validace receptorově specifických zobrazovacích činidel nebo diagnostických reagensů.

Organism Člověk

Tissue Fetální ledvina

Charakteristika

Age Plod

Gender Ženy

Morphology Epitelu podobné

Growth properties Monovrstva, adherentní

Regulační údaje

Buňky HEK293-GPRC5D | 305989

Citation HEK293-GPRC5D (katalogové číslo Cytion 305989)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekulární data

Receptors expressed GPRC5D

Zpracování

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)

Supplements Médium doplňte 10% FBS, 1 mM pyruvát sodným, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Přidejte geneticin (G418-Sulfat), abyste dosáhli konečné koncentrace 1 mg/ml.

Dissociation Reagent Trypsin-EDTA

Subculturing Pro běžné kultivace adherentních buněk: Z adherentních buněk odsadte staré kultivační médium a promyjte je PBS, abyste odstranili veškeré zbývající médium. Po odsátí PBS přidejte odpovídající objem roztoku trypsinu/EDTA podle velikosti kultivační nádoby (např. 1 ml pro baňku T25, 3 ml pro baňku T75) a inkubujte při pokojové teplotě nebo 37 °C, dokud se buňky neoddělí (5-10 minut). Oddělování sledujte pod mikroskopem a v případě potřeby jemně poklepejte na nádobu, aby se buňky uvolnily. Po oddělení přidejte kompletní médium k inaktivaci trypsinu/EDTA, jemně buňky resuspendujte a alikvotní část buněčné suspenze přeneste do nové kultivační nádoby obsahující čerstvé médium. Umístěte nádobu do inkubátoru nastaveného na 37 °C s 5 % CO₂ a každé 2 až 3 dny vyměňte médium.

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení rozdělte buňky v poměru 1:2 až 1:3 do baněk T25 a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazování a adherovat (v případě adherujících kultur).

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky HEK293-GPRC5D | 305989

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při $300 \times g$ po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Skladování při $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Buňky HEK293-GPRC5D | 305989

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.