Product sheet

Κύτταρα HEK293-GPRC5D | 305989

Γενικές πληροφορίες

Description	**Σημείωση: Οι τιμές που εμφανίζονται για τις κυτταρικές σειρές ισχύουν αποκλειστικά για πελάτες του ακαδημαϊκού τομέα ή μη κερδοσκοπικού χαρακτήρα. Για εμπορικές οντότητες, η τιμή ανέρχεται σε περίπου 6.250 €.** **Εάν εκπροσωπείτε εμπορική οντότητα ή δεν είστε σίγουροι για την κατηγορία στην οποία ανήκετε, παρακαλούμε επικοινωνήστε μαζί μας.** Τα κύτταρα HEK293-GPRC5D είναι ανθρώπινα εμβρυϊκά νεφρικά κύτταρα 293 (HEK293) που έχουν τροποποιηθεί γενετικά ώστε να εκφράζουν σταθερά τον ανθρώπινο υποδοχέα της οικογένειας των υποδοχέων συζευγμένων με πρωτεΐνη G, ομάδα C, μέλος 5, D (GPRC5D), έναν ορφανό υποδοχέα που ανήκει στην οικογένεια των υποδοχέων συζευγμένων με πρωτεΐνη G της κατηγορίας C. Ο GPRC5D παρουσιάζει εξαιρετικά περιορισμένη έκφραση σε φυσιολογικούς ιστούς, με κυρίαρχη έκφραση που έχει αναφερθεί στους θύλακες των τριχών, στους κερατινοποιημένους ιστούς και στα πλασματοκύτταρα. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι ο υποδοχέας εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στο πολλαπλό μυέλωμα και σε ορισμένες άλλες κακοήθειες των πλασματοκυττάρων, όπου η περιορισμένη κατανομή του στους φυσιολογικούς ιστούς και η ισχυρή έκφρασή του που σχετίζεται με τον όγκο τον έχουν καταστήσει έναν εξέχοντα στόχο για την ανάπτυξη ανοσοθεραπειών, ιδιαίτερα σε ασθενείς που υποτροπιάζουν μετά από θεραπείες που στοχεύουν το BCMA. Τα κύτταρα HEK293-GPRC5D χρησιμοποιούνται ευρέως στην αιματολογική ογκολογική έρευνα και στην ανάπτυξη θεραπειών για τον χαρακτηρισμό μονοκλωνικών αντισωμάτων που στοχεύουν το GPRC5D, δισπεκτικών δεσμευτών Τ-κυττάρων, συζευγμάτων αντισωμάτων-φαρμάκων και θεραπειών με CAR-T ή CAR-NK κύτταρα. Το σταθερό σύστημα ανασυνδυασμένης έκφρασης επιτρέπει την ποσοτική αξιολόγηση της συγγένειας σύνδεσης με το αντιγόνο, της κατάληψης του υποδοχέα, της πυκνότητας έκφρασης στην επιφάνεια, της ειδικότητας του επιτόπου και της κυτταροτοξικότητας που εξαρτάται από τον στόχο. Αυτά τα κύτταρα είναι ιδιαίτερα πολύτιμα για την αξιολόγηση της δραστικότητας και της επιλεκτικότητας των θεραπειών με τροποποιημένα ανοσοκύτταρα και των βιολογικών παραγόντων ανακατεύθυνσης Τ-κυττάρων που στοχεύουν κακοήθειες θετικές στο GPRC5D. Πρόσθετες εφαρμογές περιλαμβάνουν την ανάπτυξη δοκιμασιών κυτταρομετρίας ροής, δοκιμασίες αναφοράς, διαλογή υψηλής απόδοσης και επικύρωση παραγόντων απεικόνισης ειδικών για υποδοχείς ή διαγνωστικών αντιδραστηρίων.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Εμβρυϊκός νεφρός
Disease	Μετασχηματισμένο/αθανατοποιημένο· μη ογκογόνο (υπόβαθρο HEK293)
Applications	Ανάπτυξη αντισωμάτων που στοχεύουν στο GPRC5D και δισπεκτικών αντισωμάτων· θεραπείες για το πολλαπλό μυέλωμα· θεραπεία με κύτταρα CAR-T· δοκιμασίες ADCC/CDC· κυτταρομετρία ροής· διαλογή στον τομέα της ανοσο-ογκολογίας

Χαρακτηριστικά

Age	Έμβρυο

Product sheet

Κύτταρα HEK293-GPRC5D | 305989

Gender	Γυναίκα
Morphology	Επιθηλιοειδής
Cell type	Επιθηλιακά κύτταρα
Growth properties	Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HEK293-GPRC5D (αριθμός καταλόγου Cytion 305989)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G25
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά HEK293 περιέχει ένα κατασκεύασμα έκφρασης του GPRC5D για μελέτες αντιγόνων του πολλαπλού μυελώματος και την ανάπτυξη στοχευμένης θεραπείας. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο στη Γερμανία και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	GPRC5D

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 1 mM πυρουβικό νάτριο, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Προσθέστε Geneticin (G418-Sulfat) για να επιτευχθεί τελική συγκέντρωση 1 mg/mL.
Dissociation Reagent	Τρυψίνη-EDTA
Doubling time	περίπου 24-36 ώρες

Κύτταρα HEK293-GPRC5D | 305989

Subculturing	Για συνήθη καλλιέργεια προσκολλημένων κυττάρων: Αναρροφήστε το παλιό μέσο καλλιέργειας από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS για να απομακρύνετε τυχόν εναπομείναν μέσο. Αφού αναρροφήσετε το PBS, προσθέστε τον κατάλληλο όγκο διαλύματος Trypsin/EDTA με βάση το μέγεθος του δοχείου καλλιέργειας (π.χ. 1 ml για φιάλη T25, 3 ml για φιάλη T75) και επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου ή 37°C έως ότου αποκολληθούν τα κύτταρα (5-10 λεπτά). Παρακολουθήστε την αποκόλληση στο μικροσκόπιο και χτυπήστε απαλά το δοχείο εάν είναι απαραίτητο για να απελευθερώσετε τα κύτταρα. Αφού αποκολληθούν, προσθέστε πλήρες μέσο για να αδρανοποιήσετε την Τρυψίνη/EDTA, ανασυσσωματώστε απαλά τα κύτταρα και μεταφέρετε μια εκατοστιαία ποσότητα του εναιωρήματος των κυττάρων σε ένα νέο δοχείο καλλιέργειας που περιέχει φρέσκο μέσο. Τοποθετήστε το δοχείο σε επωαστήρα ρυθμισμένο στους 37°C με 5% $_{CO2}$ και αλλάζετε το μέσο κάθε 2-3 ημέρες.
Split ratio	1 έως 5
Seeding density	2 έως 4 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, χωρίστε τα κύτταρα σε αναλογία 1:2 έως 1:3 σε φιάλες T25 και αφήστε τα κύτταρα να ανακάμψουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν (για προσκολλημένες καλλιέργειες) για τουλάχιστον 24 ώρες.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HEK293-GPRC5D | 305989

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.