**Product sheet**

# HEK293-GPRC5D rakud | 305989

## Üldine teave

| | |
|---|---|
| **Description** | **Vastutuse välistamine: Rakuliinide juures näidatud hinnad kehtivad ainult akadeemilistele ja mittetulunduslikele klientidele. Äriühingute puhul on hind umbes 6250 eurot.**<br>**Kui esindate äriühingut või ei ole kindel, milline kategooria teie puhul kehtib, palun võtke meiega ühendust.**<br><br>HEK293-GPRC5D rakud on inimese embrüonaalsed neeru 293 (HEK293) rakud, mis on geneetiliselt muundatud stabiilselt ekspresseerima inimese G-valgu-seotud retseptorite perekonna C rühma 5 liiget D (GPRC5D), mis on C-klassi G-valgu-seotud retseptorite perekonda kuuluv orvuretseptor. GPRC5D ekspresseerub normaalse kudedes väga piiratult, kusjuures domineeriv ekspressioon on täheldatud karvafolliikulites, keratiniseerunud kudedes ja plasmarakkudes. Oluline on, et retseptor ekspresseerub tugevalt mitmekordse müeloomi ja teatud teiste plasmarakkude pahaloomuliste kasvajate korral, kus selle piiratud jaotus normaalse kudedes ja tugev kasvajaga seotud ekspressioon on muutnud selle silmapaistvaks sihtmärgiks immunoteraapia arendamisel, eriti patsientidel, kellel on esinenud retsidiiv pärast BCMA-suunatud ravimeetodeid.<br><br>HEK293-GPRC5D rakke kasutatakse laialdaselt hematoloogilise onkoloogia uurimistöös ja ravimite arendamisel GPRC5D-le suunatud monoklonaalsete antikehade, bispetsiifiliste T-rakkude aktivaatorite, antikeha-ravimkonjugaatide ning CAR-T- või CAR-NK-rakkude ravi iseloomustamiseks. Stabiilne rekombinantne ekspressioonisüsteem võimaldab kvantitatiivselt hinnata antigeeni seondumisaafiinsust, retseptori hõivatust, pinnalise ekspressiooni tihedust, epitoobi spetsiifilisust ja sihtmärgist sõltuvat tsütotoksilisust. Need rakud on eriti väärtuslikud GPRC5D-positiivsetele pahaloomulistele kasvajatele suunatud geneetiliselt muundatud immuunrakkude ravimite ja T-rakkude suunamisel põhinevate bioloogiliste ravimite aktiivsuse ja selektiivsuse hindamisel. Lisarakendused hõlmavad voolutsütomeetria analüüside arendamist, reporteranalüüse, suure läbilaskevõimega sõelumist ning retseptorispetsiifiliste pildistamisainete või diagnostiliste reagentide valideerimist. |
| **Organism** | Inimene |
| **Tissue** | Loote neerud |
| **Disease** | Muundatud/immortaliseeritud; ei põhjusta kasvajate teket (HEK293-taust) |
| **Applications** | GPRC5D-le suunatud antikeha ja bispetsiifilise antikeha arendamine; hulgimüeloomi ravimid; CAR-T-rakkude ravi; ADCC/CDC-analüüsid; voolutsütomeetria; immunoonkoloogiline sõelumine |

## Omadused

| | |
|---|---|
| **Age** | Loote |
| **Gender** | Naised |
| **Morphology** | Epiteelilaadsed |

**Product sheet**

# HEK293-GPRC5D rakud | 305989

| | |
|---|---|
| **Cell type** | Epiteelirakud |
| **Growth properties** | Monokihiline, kleepuv |

## Regulatiivsed andmed

| | |
|---|---|
| **Citation** | HEK293-GPRC5D (Cytioni kataloginumber 305989) |
| **Biosafety level** | 1 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_6G25 |
| **GMO Status** | GMO-S1: See HEK293 rakuliin sisaldab GPRC5D ekspressioonikonstrukti, mis on mõeldud mitmekordse müeloomi antigeenide uurimiseks ja sihtterapia väljatöötamiseks. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ning võib mujal erineda. |

## Biomolekulaarsed andmed

| | |
|---|---|
| **Receptors expressed** | GPRC5D |

## Töötlemine

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820700a) |
| **Supplements** | Täiendage keskkonda 10% FBS-iga, 1 mM naatriumpüruvaadiga, 10 mM HEPES-iga, 1% NEAA-ga. Lisage geneetilistiini (G418-Sulfat), et saavutada lõplik kontsentratsioon 1 mg/ml. |
| **Dissociation Reagent** | Trypsin-EDTA |
| **Doubling time** | u. 24–36 tundi |

# HEK293-GPRC5D rakud | 305989

| | |
|---|---|
| **Subculturing** | Rutiinseks adherentseks rakukultuuriks: Aspireerige adhereeruvatelt rakkudelt vana kultuurkeskkond ja peske neid PBS-ga, et eemaldada allesjäänud keskkond. Pärast PBS-i aspiratsiooni lisage sobiv kogus trüpsiini/EDTA lahust vastavalt kasvatusanuma suurusele (nt 1 ml T25 kolvi puhul, 3 ml T75 kolvi puhul) ja inkubeerige toatemperatuuril või 37 °C, kuni rakud eralduvad (5-10 minutit). Jälgige rakkude eraldumist mikroskoobi all ja koputage vajadusel õrnalt anumat, et rakud eralduksid. Kui rakud on eraldunud, lisage trüpsiini/EDTA inaktiveerimiseks täielikku söötmeainet, suspenseerige rakud ettevaatlikult uuesti ja kandke rakususpensiooni alikvoot uude, värsket söötmeainet sisaldavasse kasvatusanumasse. Asetage anum inkubaatorisse, mille temperatuur on 37 °C ja 5%$_{CO2}$, ning vahetage söötme iga 2-3 päeva tagant. |
| **Split ratio** | 1–5 |
| **Seeding density** | 2 kuni 4 x $10^4$ rakku/$cm^2$ |
| **Fluid renewal** | 2 kuni 3 korda nädalas |
| **Post-Thaw Recovery** | Pärast sulatamist jagage rakud 1:2 kuni 1:3 T25 kolvidesse ja laske rakkudel taastuda külmumisprotsessist ja adhereeruda (adhereeruvate kultuuride puhul) vähemalt 24 tundi. |
| **Freeze medium** | Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi. |

## HEK293-GPRC5D rakud | 305989

| | |
|---|---|
| **Thawing and Culturing Cells** | 1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.<br>2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.<br>3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.<br>4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.<br>5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.<br>6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.<br>7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.<br>8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused. |
| **Incubation Atmosphere** | 37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär. |
| **Shipping Conditions** | Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi. |
| **Storage Conditions** | Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist. |

## Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

## HEK293-GPRC5D rakud | 305989

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.<br><br>Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt. |