Product sheet

HEK293-TACD2-solut | 305424

Yleisiä tietoja

Description	**Vastuuvapauslauseke: Solulinjojen hinnat koskevat yksinomaan akateemisia ja voittoa tavoittelemattomia asiakkaita. Kaupallisille toimijoille hinta on noin 6 250 euroa.** **Jos edustat kaupallista toimijaa tai et ole varma, kumpaanko ryhmään kuulut, ota meihin yhteyttä.** HEK293-TACD2-solulinja on vakaa rekombinantti HEK293-solulinja, joka on muokattu ilmentämään TACD2-reseptoria keskitasoisella tai korkealla tasolla, noin 10 000 molekyyliä solua kohti. Tämä solulinja on kehitetty käyttämällä inscreenexin landing pad -tekniikkaa, joka varmistaa TACD2-geenin tarkan ja toistettavan integroinnin tiettyyn, ennalta validoituun genomilokukseen. TACD2, joka tunnetaan myös nimillä TROP2 tai GA733-1, on tuumoriin liittyvä kalsiumsignaalinvälittäjä, jolla on keskeinen rooli solunsisäisessä kalsiumsignaloinnissa, joka on ratkaisevan tärkeää solujen kasvu-, jakautumis- ja erilaistumisprosesseille. TACD2:n yli-ilmentymistä on havaittu useissa karsinoomissa, mukaan lukien paksusuoli-, mahalaukku- ja haimasyövissä, mikä tekee siitä merkittävän kohteen vasta-aine-lääke-konjugaateille ja immunoterapialle. TACD2:n ilmentyminen tässä solulinjassa vahvistettiin virtaussytometrian avulla kohdekohtaisella vasta-aineella, mikä takasi luotettavan ja yhdenmukaisen reseptoritiheyden koko solupopulaatiossa.
Organism	Ihminen
Tissue	Sikiön munuaiset
Disease	Muunnettu/ikuisesti elävä; ei aiheuta kasvaimia (HEK293-tausta)
Applications	TROP2 (TACD2/TACSTD2)-vasta-aineiden ja ADC-lääkkeiden kehittäminen (sacituzumab govitecan -analogit); kolminkertaisesti negatiivisen rintasyövän, keuhkosyövän ja uroteelisyövän tutkimus; ADCC/CDC-määritykset; virtaussytometria

Ominaisuudet

Age	Sikiö
Gender	Nainen
Morphology	Epiteelin kaltainen
Cell type	Epiteelisolut
Growth properties	Yksikerroksinen, tarttuva

Sääntelytiedot

HEK293-TACD2-solut | 305424

Citation	HEK293-TACD2 (Cytionin luettelonumero 305424)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G29
GMO Status	GMO-S1: Tämä HEK293-linja sisältää TACD2-ekspressiokonstruktion reseptorin sitoutumista ja toiminnallisia analyysejä varten. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyylitiedot

Receptors expressed	TACD2 (TROP2 tai GA733-1)

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L $NaHCO_3$ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennä elatusainetta 10 % FBS:llä, 1 mM natriumpyruvaatilla, 10 mM HEPES:llä, 1 % NEAA:lla. Lisää genetiinejä (G418-Sulfat), jotta lopullinen pitoisuus on 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Trypsin-EDTA
Doubling time	noin 24–36 tuntia
Subculturing	Rutiininomaiseen adherenttiseen soluviljelyyn: Imeytä vanha elatusaine adheesiosoluista ja pese ne PBS:llä jäljellä olevan elatusaineen poistamiseksi. Kun PBS on imetty, lisätään sopiva määrä trypsiini/EDTA-liuosta viljelyastian koon mukaan (esim. 1 ml T25-pulloon, 3 ml T75-pulloon) ja inkuboidaan huoneenlämmössä tai 37 °C:ssa, kunnes solut irtoavat (5-10 minuuttia). Seuraa irtoamista mikroskoopilla ja napauta astiaa tarvittaessa varovasti solujen irrottamiseksi. Kun solut ovat irronneet, lisätään täyttä elatusainetta trypsiinin/EDTA:n inaktivoimiseksi, solut suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensiosta aliquota uuteen kasvatusastiaan, joka sisältää tuoretta elatusainetta. Aseta astia inkubaattoriin, jonka lämpötila on 37 °C ja $_{\text{hiilidioksidipitoisuus}}$ 5 %, ja vaihda väliaine 2-3 päivän välein.
Split ratio	1–5
Seeding density	2–4 x 10^4 solua/cm^2

HEK293-TACD2-solut | 305424

Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen solut jaetaan T25-pulloihin suhteessa 1:2-1:3 ja annetaan solujen toipua pakastuksesta ja tarttua vähintään 24 tuntia. Parhaan kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi solujen sulattamisen jälkeen suosittelemme kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen käyttämistä ensimmäiseen kylvöön kryokuntoutuksen jälkeen. Kollageenipinnoitusta ei tarvita solujen myöhemmässä rutiiniviljelyssä.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.

2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.

3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.

4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.

5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.

6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.

7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.

8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 %$_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.