

HEK293-GPRC5D-solut | 305989

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 [yhteyttä meihin](#).

HEK293-GPRC5D-solut ovat ihmisen alkion munuaisperäisiä 293 (HEK293) -soluja, jotka on muokattu ilmentämään stabiilisti ihmisen G-proteiiniin kytkeytyvän reseptorin perheen C-ryhmän 5. jäsentä D (GPRC5D), joka on C-luokan G-proteiiniin kytkeytyvien reseptorien perheeseen kuuluva orpo reseptori. GPRC5D:n ilmentyminen on hyvin rajoittunutta normaaleissa kudoksissa, ja sen ilmentymistä on raportoitu pääasiassa karvatuppeissa, keratinoituneissa kudoksissa ja plasmasoluissa. Tärkeää on, että reseptoria ilmentyy runsaasti multipelissa myeloomassa ja tietyissä muissa plasmasolujen pahanlaatuisissa sairauksissa, joissa sen rajoitettu jakautuminen normaaleissa kudoksissa ja voimakas tuumoriin liittyvä ilmentyminen ovat tehneet siitä merkittävän kohteen immunoterapian kehittämiseksi, erityisesti potilailla, joilla on uusiutunut BCMA-kohdennettujen hoitojen jälkeen.

HEK293-GPRC5D-soluja käytetään laajalti hematologisen onkologian tutkimuksessa ja terapeuttisessa kehityksessä GPRC5D:tä kohdentavien monoklonaalisten vasta-aineiden, bispesifisten T-solujen aktivaattoreiden, vasta-aine-lääke-konjugaattien sekä CAR-T- tai CAR-NK-soluterapioiden karakterisoinniseksi. Vakaa rekombinanttinen ilmentymisjärjestelmä mahdollistaa antigeenisidonta-affiniteetin, reseptorin sitoutumisen, pinnan ilmentymistiheyden, epitopispesifisyyden ja kohde-riippuvaisen sytotoksisuuden kvantitatiivisen arvioinnin. Nämä solut ovat erityisen arvokkaita GPRC5D-positiivisiin pahanlaatuisiin kasvaimiin kohdistuvien muunneltujen immuunisoluterapioiden ja T-solujen uudelleenohjaavien biologisten lääkkeiden aktiivisuuden ja selektiivisyyden arvioinnissa. Muita sovelluksia ovat virtausytometrianalyysien kehittäminen, raportointianalyysit, suurikapasiteettinen seulonta sekä reseptorispesifisten kuvantamisaineiden tai diagnostisten reagenssien validointi.

Organism Ihminen

Tissue Sikiön munuaiset

Disease Muunneltu/ikuisesti elävä; ei aiheuta kasvaimia (HEK293-tausta)

Applications GPRC5D-vasta-aineen ja bispesifisen vasta-aineen kehittäminen; multipelien myelooman hoidot; CAR-T-soluterapia; ADCC/CDC-määrikyset; virtausytometria; immuno-onkologinen seulonta

Ominaisuudet

Age Sikiö

Gender Nainen

Morphology Epiteelin kaltainen

HEK293-GPRC5D-solut | 305989

Cell type Epiteelisolut

Growth properties Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

Citation HEK293-GPRC5D (Cytion-tuotenumero 305989)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_6G25

GMO Status GMO-S1: Tämä HEK293-solulinja sisältää GPRC5D-ilmentymiskonstruktiin, jota käytetään multipppelin myelooman antigeenitutkimuksissa ja kohdennetun hoidon kehittämisessä. Tämä luokitus koskee ainoastaan Saksaa, ja se voi olla erilainen muissa maissa.

Biomolekyyli tiedot

Receptors expressed GPRC5D

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (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

HEK293-GPRC5D-solut | 305989

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 trypsiini/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 hiilidioksidipitoisuus ⁵ %, ja vaihda väliaine 2-3 päivän välein.

Split ratio 1-5

Seeding density $2-4 \times 10^4$ solua/cm²

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen solut jaetaan T25-pulloihin suhteessa 1:2 tai 1:3 ja annetaan solujen toipua pakastuksesta ja adheesiota (adheesioviljelmien osalta) vähintään 24 tuntia.

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 osmoprotektanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HEK293-GPRC5D-solut | 305989

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa 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 antimikrobista ainetta, 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-prosenttisellä 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 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

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 tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

HEK293-GPRC5D-solut | 305989

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.