Product sheet

HEK293-GPRC5D sejtek | 305989

Általános információk

Description	**Jogi nyilatkozat: A sejtvonalak mellett feltüntetett árak kizárólag tudományos/non-profit ügyfelekre vonatkoznak. Kereskedelmi szervezetek esetében az ár körülbelül 6 250 euró.** **Amennyiben kereskedelmi szervezetet képvisel, vagy nem biztos abban, hogy melyik kategória vonatkozik Önre, kérjük, vegye fel velünk a kapcsolatot.** A HEK293-GPRC5D sejtek olyan humán embrionális vese 293 (HEK293) sejtek, amelyeket úgy alakítottak ki, hogy stabilan expresszálják a humán G-proteinnel kapcsolt receptorok C csoportjának 5. tagját, a D-t (GPRC5D), amely egy a C osztályú G-proteinnel kapcsolt receptorcsaládhoz tartozó árva receptor. A GPRC5D expressziója normál szövetekben rendkívül korlátozott, elsősorban a szőrtüszőkben, a keratinizált szövetekben és a plazmasejtekben jelentkezik. Fontos kiemelni, hogy a receptor expressziója magas a multiplex mielómában és bizonyos más plazmasejtes malignitásokban, ahol korlátozott normál szöveti eloszlása és erőteljes tumorhoz kapcsolódó expressziója miatt kiemelt célponttá vált az immunterápiás fejlesztésekben, különösen a BCMA-ellenes terápiák után visszaeső betegek esetében. A HEK293-GPRC5D sejteket széles körben használják a hematológiai onkológiai kutatásban és a terápiás fejlesztésben a GPRC5D-t célzó monoklonális antitestek, bispecifikus T-sejt-aktivátorok, antitest-gyógyszer konjugátumok, valamint CAR-T vagy CAR-NK sejtterápiák jellemzésére. A stabil rekombináns expressziós rendszer lehetővé teszi az antigénkötődési affinitás, a receptor-foglaltság, a felszíni expressziós sűrűség, az epitop-specifitás és a célfüggő citotoxicitás kvantitatív értékelését. Ezek a sejtek különösen értékesek a GPRC5D-pozitív rosszindulatú daganatokat célzó, génmódosított immunterápiák és T-sejt-átirányító biológiai szerek aktivitásának és szelektivitásának értékeléséhez. További alkalmazások közé tartozik az áramlási citometriás vizsgálatok fejlesztése, a riportervizsgálatok, a nagy áteresztőképességű szűrés, valamint a receptor-specifikus képalkotó szerek vagy diagnosztikai reagensek validálása.
Organism	Emberi
Tissue	Magzati vese
Disease	Átalakított/halhatatlanná tett; nem tumorigenikus (HEK293 háttér)
Applications	GPRC5D-ellenes antitestek és bispecifikus antitestek fejlesztése; a multiplex mielóma kezelése; CAR-T-sejtterápia; ADCC/CDC-vizsgálatok; áramlási citometria; immuno-onkológiai szűrés

Jellemzők

Age	Magzat
Gender	Női
Morphology	Epithelszerű

HEK293-GPRC5D sejtek | 305989

Cell type	Epithel sejtek
Growth properties	Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

Citation	HEK293-GPRC5D (Cytion katalógusszám: 305989)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G25
GMO Status	GMO-S1: Ez a HEK293 sejtvonal egy GPRC5D-expressziós konstrukciót tartalmaz, amelyet a multiplex mielóma antigénjeinek vizsgálatához és a célzott terápiák fejlesztéséhez használnak. Ez a besorolás kizárólag Németország területén érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed	GPRC5D

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 1 mM nátrium-piruváttal, 10 mM HEPES-szel, 1% NEAA-val. Adjunk hozzá Geneticint (G418-Sulfat), hogy a végső koncentráció 1 mg/ml legyen.
Dissociation Reagent	Trypsin-EDTA
Doubling time	kb. 24–36 óra

HEK293-GPRC5D sejtek | 305989

Subculturing	Rutinszerű adherens sejtkultúrához: Szívja le a régi táptalajt az adherens sejtekről, és mossa le őket PBS-szel a maradék táptalaj eltávolítása érdekében. A PBS leszívása után adjunk hozzá a tenyésztőedény méretének megfelelő mennyiségű tripszin/EDTA-oldatot (pl. 1 ml T25 lombikhoz, 3 ml T75 lombikhoz), és inkubáljuk szobahőmérsékleten vagy 37°C-on, amíg a sejtek leválnak (5-10 perc). Ellenőrizzük a leválást mikroszkóp alatt, és ha szükséges, óvatosan kopogtassuk meg az edényt a sejtek kiszabadításához. Ha a sejtek leváltak, adjunk hozzá teljes tápfolyadékot a tripszin/EDTA inaktiválásához, óvatosan szuszpendáljuk újra a sejteket, és a sejtszuszpenzió egy aliquotáját helyezzük át egy új, friss tápfolyadékot tartalmazó tenyésztőedénybe. Helyezze az edényt 37 °C-ra és 5%$_{CO2\text{-}ra}$ beállított inkubátorba, és 2-3 naponta cserélje a tápfolyadékot.
Split ratio	1–5
Seeding density	2–4 x 10^4 sejt/cm^2
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Post-Thaw Recovery	A felolvasztás után osszuk a sejteket 1:2-1:3 arányban T25 lombikokba, és hagyjuk, hogy a sejtek legalább 24 órán keresztül regenerálódjanak a fagyasztásból és megtapadjanak (adhezív kultúrák esetén).
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

HEK293-GPRC5D sejtek | 305989

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

HEK293-GPRC5D sejtek | 305989

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.