Product sheet

HEK293-GPRC5D ląstelės | 305989

Bendra informacija

Description	**Atsakomybės apribojimas: Nurodytos ląstelių linijų kainos taikomos tik akademiniams ir nekomerciniams klientams. Komercinėms įmonėms kaina yra apie 6 250 EUR.** **Jei atstovaujate komercinei įmonei arba nesate tikri, kuri kategorija jums taikoma, prašome susisiekti su mumis.** HEK293-GPRC5D ląstelės yra žmogaus embrioninės inkstų 293 (HEK293) ląstelės, modifikuotos taip, kad stabiliai ekspresuotų žmogaus G baltymų porinių receptorių šeimos C grupės 5 nario D (GPRC5D) geną – retą receptorių, priklausantį C klasės G baltymų porinių receptorių šeimai. GPRC5D ekspresija normaliuose audiniuose yra labai ribota, o dominuojanti ekspresija pastebima plaukų folikuluose, keratinizuotuose audiniuose ir plazminėse ląstelėse. Svarbu pažymėti, kad receptorius yra labai ekspresuojamas daugybinėje mielomatoje ir tam tikruose kituose plazminių ląstelių piktybiniuose navikuose, kur jo ribotas pasiskirstymas normaliuose audiniuose ir stipri su naviku susijusi ekspresija padarė jį svarbiu imunoterapijos plėtros taikiniu, ypač pacientams, kuriems pasikartoja liga po BCMA nukreiptų terapijų. HEK293-GPRC5D ląstelės plačiai naudojamos hematologinės onkologijos tyrimuose ir terapijos plėtroje GPRC5D nukreiptų monokloninių antikūnų, bispecifinių T ląstelių aktyviklių, antikūnų-vaistų konjugatų bei CAR-T ar CAR-NK ląstelių terapijų charakterizavimui. Stabili rekombinantinė ekspresijos sistema leidžia kiekybiškai įvertinti antigeno prisijungimo afinitetą, receptorių užimtumą, paviršiaus ekspresijos tankį, epitopo specifiškumą ir nuo taikinio priklausomą citotoksiškumą. Šios ląstelės yra ypač vertingos vertinant modifikuotų imuninių ląstelių terapijų ir T ląstelių nukreipimo biologinių preparatų, nukreiptų prieš GPRC5D teigiamas piktybines ligas, aktyvumą ir selektyvumą. Papildomos taikymo sritys apima srauto citometrijos tyrimų kūrimą, reporterinius tyrimus, didelio našumo atranką ir receptorių specifinių vaizdinimo agentų ar diagnostinių reagentų patvirtinimą.
Organism	Žmogus
Tissue	Vaisiaus inkstai
Disease	Transformuotas/imortalizuotas; nesukelia navikų (HEK293 fonas)
Applications	GPRC5D receptorių taikinančių antikūnų ir bispecifinių antikūnų kūrimas; dauginės mielomos gydymo priemonės; CAR-T ląstelių terapija; ADCC/CDC tyrimai; srauto citometrija; imunoonkologinis atranka

Charakteristikos

Age	Vaisius
Gender	Moteris
Morphology	Į epitelį panašus

HEK293-GPRC5D ląstelės | 305989

Cell type	Epitelio ląstelės
Growth properties	Viensluoksnis, prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	HEK293-GPRC5D (Cytion katalogo numeris 305989)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G25
GMO Status	GMO-S1: Ši HEK293 ląstelių linija turi GPRC5D ekspresijos konstruktą, skirtą dauginės mielomos antigenų tyrimams ir tikslinės terapijos kūrimui. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed	GPRC5D

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS, 1 mM natrio piruvatu, 10 mM HEPES, 1 % NEAA. Pridėkite geneticino (G418-Sulfat), kad galutinė koncentracija būtų 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Trypsino ir EDTA
Doubling time	maždaug 24–36 valandos

HEK293-GPRC5D ląstelės | 305989

Subculturing	Įprastinėms adherentinėms ląstelių kultūroms: Kad pašalintumėte visą likusią terpę, iš adherentinių ląstelių išsiurbkite seną terpę ir nuplaukite jas PBS. Išsiurbę PBS, įpilkite reikiamą kiekį tripsino ir EDTA tirpalo, atsižvelgiant į kultūros indo dydį (pvz., 1 ml T25 kolbai, 3 ml T75 kolbai), ir inkubuokite kambario arba 37 °C temperatūroje, kol ląstelės atsiskirs (5-10 min.). Stebėkite atsiskyrimą per mikroskopą ir, jei reikia, švelniai palieskite indą, kad ląstelės išsilaisvintų. Kai ląstelės atsiskiria, įpilkite pilną terpę, kad būtų inaktyvuotas tripsinas/EDTA, atsargiai reuspenduokite ląsteles ir perkelkite alikvotą ląstelių suspensijos į naują auginimo indą su šviežia terpe. Įstatykite indą į inkubatorių, kuriame nustatyta 37 °C temperatūra ir 5 % $_{CO2}$, o terpę keiskite kas 2-3 dienas.
Split ratio	1–5
Seeding density	2–4 x 10^4 ląstelės/cm^2
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Post-Thaw Recovery	Po atšildymo suskirstykite ląsteles santykiu 1:2-1:3 į T25 kolbas ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso bei sukibti (jei tai adherencinės kultūros) mažiausiai 24 valandas.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HEK293-GPRC5D ląstelės | 305989

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

HEK293-GPRC5D ląstelės | 305989

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.