Product sheet

HEK293-GPRC5D šūnas | 305989

Vispārīga informācija

Description	**Atbrīvojums no atbildības: Šeit norādītās šūnu līniju cenas attiecas tikai uz akadēmiskajiem/bezpeļņas klientiem. Komerciālām organizācijām cena ir aptuveni 6250 eiro.** **Ja Jūs pārstāvat komerciālu organizāciju vai neesat pārliecināts, kura kategorija Jums attiecas, lūdzu, sazinieties ar mums.** HEK293-GPRC5D šūnas ir cilvēka embrija nieres 293 (HEK293) šūnas, kas modificētas, lai stabili ekspresētu cilvēka G proteīnu saistīto receptoru ģimenes C grupas 5. locekļa D (GPRC5D) gēnu, kas ir orfāns receptors, piederīgs C klases G proteīnu saistīto receptoru ģimenei. GPRC5D izpaužas ļoti ierobežoti normālos audos, galvenokārt matu folikulās, keratinizētos audos un plazmas šūnās. Svarīgi, ka šis receptors ir augsti ekspresēts daudzkārtējā mielomā un noteiktos citos plazmas šūnu ļaundabīgajos audzējos, kur tā ierobežotā izplatība normālos audos un spēcīgā ekspresija saistībā ar audzējiem ir padarījusi to par ievērojamu mērķi imūnterapijas attīstībā, īpaši pacientiem, kuriem ir recidīvs pēc BCMA-mērķtiecīgām terapijām. HEK293-GPRC5D šūnas plaši izmanto hematoloģiskās onkoloģijas pētījumos un terapijas attīstībā, lai raksturotu pret GPRC5D vērstus monoklonālos antivielu, bispecifiskos T šūnu aktivatorus, antivielu-zāļu konjugātus un CAR-T vai CAR-NK šūnu terapijas. Stabila rekombinantā ekspresijas sistēma ļauj kvantitatīvi novērtēt antigēna saistīšanās afinitāti, receptoru aizņemšanu, virsmas ekspresijas blīvumu, epitopa specifiskumu un mērķa atkarīgo citotoksicitāti. Šīs šūnas ir īpaši vērtīgas, lai novērtētu inženierijas imūno šūnu terapiju aktivitāti un selektivitāti, kā arī T šūnu novirzošos bioloģiskos preparātus, kas vērsti pret GPRC5D-pozitīviem ļaundabīgiem audzējiem. Papildu pielietojumi ietver plūsmas citometrijas testu izstrādi, reporteru testus, augstas caurlaidspējas skrīningu un receptoru specifisku attēlveidošanas līdzekļu vai diagnostisko reaģentu validāciju.
Organism	Cilvēks
Tissue	Augļa nieres
Disease	Pārveidots/imortalizēts; neizraisa audzēju veidošanos (HEK293 fons)
Applications	GPRC5D mērķa antivielu un bispecifisko antivielu izstrāde; daudzveidīgās mielomas ārstēšanas līdzekļi; CAR-T šūnu terapija; ADCC/CDC analīzes; plūsmas citometrija; imūnonkoloģiskā skrīninga metodes

Raksturojums

Age	Auglis
Gender	Sievietes
Morphology	Epitēlijveidīgs
Cell type	Epitēlija šūnas

HEK293-GPRC5D šūnas | 305989

Growth properties	Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation	HEK293-GPRC5D (Cytion kataloga numurs 305989)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G25
GMO Status	GMO-S1: Šī HEK293 šūnu līnija satur GPRC5D ekspresijas konstruktu, kas paredzēts daudzveidīgās mielomas antigēnu pētījumiem un mērķtiecīgas terapijas izstrādei. Šī klasifikācija ir spēkā tikai Vācijā un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Receptors expressed	GPRC5D

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildiniet barotni ar 10% FBS, 1 mM nātrija piruvātu, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Pievienojiet ģenētiķīnu (G418-Sulfat), lai sasniegtu galīgo koncentrāciju 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Tripsīns-EDTA
Doubling time	aptuveni 24–36 stundas
Subculturing	Parastai adherentu šūnu kultūrai: Lai noņemtu atlikušo barotni, aspirējiet veco barotni no pielipušajām šūnām un izskalojiet tās ar PBS, lai noņemtu atlikušo barotni. Pēc PBS atsūknēšanas pievienojiet atbilstošu tripsīna/EDTA šķīduma tilpumu atkarībā no kultūras trauka lieluma (piemēram, 1 ml T25 kolbai, 3 ml T75 kolbai) un inkubējiet istabas temperatūrā vai 37 °C, līdz šūnas atdalās (5-10 minūtes). Novērot atdalīšanos ar mikroskopu un, ja nepieciešams, viegli piesitiet trauku, lai atbrīvotu šūnas. Pēc atdalīšanās pievienot pilnu barotni, lai inaktivētu tripsīnu/EDTA, uzmanīgi resuspendēt šūnas un šūnu suspensijas alikvotu pārvietot jaunā barotnē ar svaigu barotni. Ievietot trauku inkubatorā, kas iestatīts 37 °C temperatūrā ar 5 % $_{CO2}$, un ik pēc 2-3 dienām mainīt barotni.

HEK293-GPRC5D šūnas | 305989

Split ratio	no 1 līdz 5
Seeding density	2 līdz 4 x 10^4 šūnas/cm^2
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas sadaliet šūnas T25 kolbās proporcijā 1:2 līdz 1:3 un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un salipt (adhēzijas kultūrām) vismaz 24 stundas.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

HEK293-GPRC5D šūnas | 305989

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.