

HEK293-GPRC5D-celler | 305989

Generell informasjon

Description

Ansvarsfraskrivelse: Prisene som vises for cellelinjer gjelder utelukkende for akademiske kunder og ideelle organisasjoner. For kommersielle aktører er prisen ca. 6 250 euro. Hvis du representerer en kommersiell aktør eller er usikker på hvilken kategori som gjelder, vennligst [kontakt oss](#).

HEK293-GPRC5D-celler er humane embryonale nyreceller 293 (HEK293) som er genmodifisert for å uttrykke humant G-proteinkoblet reseptor, familie C, gruppe 5, medlem D (GPRC5D) på en stabil måte, en såkalt «orphan»-reseptor som tilhører klasse C av G-proteinkoblede reseptorer. GPRC5D viser svært begrenset uttrykk i normalt vev, med overveiende uttrykk rapportert i hårsekker, keratiniserte vev og plasmaceller. Det er viktig å merke seg at reseptoren uttrykkes i høy grad ved multippelt myelom og visse andre plasmacellemaligniteter, hvor den begrensede fordelingen i normalt vev og det robuste tumorassosierte uttrykket har gjort den til et fremtredende mål for utvikling av immunterapi, særlig hos pasienter som får tilbakefall etter BCMA-rettede behandlinger.

HEK293-GPRC5D-celler er mye brukt i hematologisk onkologisk forskning og terapeutisk utvikling for karakterisering av GPRC5D-målrettede monoklonale antistoffer, bispesifikke T-celle-engagere, antistoff-legemiddelkonjugater og CAR-T- eller CAR-NK-cellebehandlinger. Det stabile rekombinante ekspresjonssystemet muliggjør kvantitativ evaluering av antigenbindingsaffinitet, reseptorbelegg, overflateekspresjonstetthet, epitopsesifisitet og målavhengig cytotoxicitet. Disse cellene er spesielt verdifulle for å vurdere aktiviteten og selektiviteten til konstruerte immuncelleterapi og T-celleomdirigerende biologiske midler rettet mot GPRC5D-positive maligniteter. Ytterligere anvendelser inkluderer utvikling av flowcytometri-assayer, reporterassayer, høykapasitetsscreening og validering av reseptorspesifikke bildedannende midler eller diagnostiske reagenser.

Organism

Menneskelig

Tissue

Fosterets nyre

Disease

Transformert/immortaliseret; ikke-tumorogen (HEK293-bakgrunn)

Applications

Utvikling av GPRC5D-rettede antistoffer og bispesifikke antistoffer; behandlingsmetoder for multippelt myelom; CAR-T-cellebehandling; ADCC-/CDC-analyser; strømningscytometri; screening innen immunonkologi

Kjennetegn

Age

Foster

Gender

Kvinne

Morphology

Epitel-lignende

HEK293-GPRC5D-celler | 305989**Cell type** Epitelceller**Growth properties** Monolag, vedheftende**Regulatoriske data****Citation** HEK293-GPRC5D (Cytion-katalognummer 305989)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6G25**GMO Status** GMO-S1: Denne HEK293-cellelinjen inneholder et GPRC5D-ekspresjonskonstrukt for studier av antigenet ved multippelt myelom og utvikling av målrettet terapi. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan være annerledes andre steder.**Biomolekylære data****Receptors expressed** GPRC5D**Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS, 1 mM natriumpyruvat, 10 mM HEPES, 1 % NEAA. Tilsett Geneticin (G418-Sulfat) for å oppnå en sluttkonsentrasjon på 1 mg/ml.**Dissociation Reagent** Trypsin-EDTA**Doubling time** ca. 24–36 timer

HEK293-GPRC5D-celler | 305989

Subculturing For rutinemessig adherent cellekultur: Aspirer det gamle dyrkningsmediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS for å fjerne eventuelt gjenværende medium. Etter at PBS er aspirert, tilsett et passende volum Trypsin/EDTA-løsning basert på størrelsen på dyrkingskaret (f.eks. 1 ml for en T25-kolbe, 3 ml for en T75-kolbe), og inkuber ved romtemperatur eller 37 °C til cellene løsner (5-10 minutter). Overvåk løsrivelsen under mikroskop, og bank forsiktig på beholderen om nødvendig for å frigjøre cellene. Når cellene har løsnet, tilsett komplett medium for å inaktivere trypsin/EDTA, resuspender cellene forsiktig, og overfør en aliquot av celsuspensjonen til et nytt dyrkingskar som inneholder nytt medium. Plasser karet i en inkubator innstilt på 37 °C med 5 %_{CO2}, og bytt medium hver 2.-3. dag.

Split ratio 1 til 5

Seeding density 2 til 4×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Post-Thaw Recovery Etter tining deles cellene i forholdet 1:2 til 1:3 i T25-kolber, og cellene får komme seg etter fryseprosessen og feste seg (for adherente kulturer) i minst 24 timer.

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

HEK293-GPRC5D-celler | 305989

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Lagring ved $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

HEK293-GPRC5D-celler | 305989

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.