Product sheet

Células HEK293-CD20 | 305987

Informações gerais

Description	**Aviso legal: Os preços apresentados para as linhas celulares destinam-se exclusivamente a clientes do setor académico ou sem fins lucrativos. Para entidades comerciais, o preço é de aproximadamente 6 250 €.** **Se representar uma entidade comercial ou não tiver a certeza de qual a categoria a que se enquadra, por favor contacte-nos.** As células HEK293-CD20 são células renais embrionárias humanas 293 (HEK293) modificadas para expressar de forma estável o CD20 humano (MS4A1), uma fosfoproteína transmembranar não glicosilada expressa principalmente nos linfócitos B. O CD20 está envolvido na regulação da ativação, proliferação e diferenciação das células B, bem como na sinalização do cálcio, e constitui um dos alvos terapêuticos mais amplamente validados em neoplasias hematológicas e doenças autoimunes. Os modelos HEK293-CD20 estáveis proporcionam uma expressão superficial controlada e reprodutível do antígeno, permitindo a caracterização detalhada de terapêuticas direcionadas ao CD20 e de mecanismos imunomediados. As células HEK293-CD20 são amplamente utilizadas na imuno-oncologia e no desenvolvimento de produtos biológicos para a avaliação de anticorpos monoclonais, anticorpos bispecíficos, conjugados anticorpo-fármaco e terapias com células imunitárias modificadas que têm como alvo o CD20. Estas células permitem a análise quantitativa da afinidade de ligação dos anticorpos, da especificidade do epítopo, da ocupação do recetor, da dinâmica de internalização e das funções efetoras imunitárias mediadas por Fc, tais como a citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC) e a citotoxicidade dependente do complemento (CDC). São também frequentemente utilizadas no desenvolvimento de ensaios de citometria de fluxo, testes de potência, bioensaios com marcadores e fluxos de trabalho de triagem terapêutica de alto rendimento. Uma vez que as células HEK293 permitem uma expressão eficiente de proteínas recombinantes e um crescimento celular robusto, constituem uma plataforma fiável e escalável para a geração de ensaios padronizados e estudos de validação de alvos.
Organism	Humano
Tissue	Rim fetal
Disease	Transformado/imortalizado; não tumorigénico (linha celular HEK293)
Applications	Desenvolvimento de anticorpos direcionados ao CD20 e de anticorpos bispecíficos; terapia com células CAR-T; ensaios ADCC/CDC; citometria de fluxo; testes de potência de produtos biológicos; investigação sobre antígenos das células B

Caraterísticas

Age	Feto
Gender	Feminino

Células HEK293-CD20 | 305987

Morphology	De tipo epitelial
Cell type	Células epiteliais
Growth properties	Monocamada, aderente

Dados regulamentares

Citation	HEK293-CD20 (número de catálogo da Cytion 305987)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A8V4
GMO Status	GMO-S1: Esta linha celular HEK293 contém uma construção de expressão de CD20 (MS4A1) destinada a estudos sobre anticorpos terapêuticos e funções efetoras do sistema imunitário. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Receptors expressed	CD20

Manuseamento

Culture Medium	RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO3 (número de artigo Cytion 820700a)
Supplements	Suplementar o meio com 10% de FBS, 1 mM de piruvato de sódio, 10 mM de HEPES, 1% de NEAA. Adicionar Geneticin (G418-Sulfat) para obter uma concentração final de 1 mg/mL.
Dissociation Reagent	Tripsina-EDTA
Doubling time	aprox. 24-36 horas

Células HEK293-CD20 | 305987

Subculturing	Para cultura de rotina de células aderentes: Aspirar o meio de cultura antigo das células aderentes e lavá-las com PBS para remover qualquer meio restante. Depois de aspirar o PBS, adicionar o volume adequado de solução de tripsina/EDTA com base no tamanho do recipiente de cultura (por exemplo, 1 ml para um frasco T25, 3 ml para um frasco T75) e incubar à temperatura ambiente ou a 37°C até as células se destacarem (5-10 minutos). Monitorizar o desprendimento sob um microscópio e, se necessário, bater suavemente no recipiente para libertar as células. Uma vez desprendidas, adicionar meio completo para inativar a tripsina/EDTA, ressuspender suavemente as células e transferir uma alíquota da suspensão de células para um novo recipiente de cultura contendo meio fresco. Colocar o recipiente numa incubadora regulada para 37°C com 5%$_{de\ CO2}$ e mudar o meio a cada 2-3 dias.
Split ratio	1 a 5
Seeding density	2 a 4 x 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Post-Thaw Recovery	Após a descongelação, dividir as células numa proporção de 1:2 a 1:3 em frascos T25 e deixar as células recuperar do processo de congelação e aderir (para culturas aderentes) durante pelo menos 24 horas.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células HEK293-CD20 | 305987

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.

2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.

3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.

4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.

5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.

6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.

7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.

8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.