Product sheet

Células HEK293-GPRC5D | 305989

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-GPRC5D são células renais embrionárias humanas 293 (HEK293) modificadas para expressarem de forma estável o receptor humano da família C, grupo 5, membro D (GPRC5D), um receptor órfão pertencente à família de receptores acoplados à proteína G da classe C. O GPRC5D apresenta uma expressão altamente restrita em tecidos normais, com expressão predominante relatada nos folículos capilares, tecidos queratinizados e células plasmáticas. É importante referir que o recetor é altamente expresso no mieloma múltiplo e em certas outras neoplasias de células plasmáticas, onde a sua distribuição limitada nos tecidos normais e a expressão robusta associada ao tumor o tornaram um alvo proeminente para o desenvolvimento de imunoterapias, particularmente em doentes com recidiva após terapias direcionadas contra o BCMA. As células HEK293-GPRC5D são amplamente utilizadas na investigação em oncologia hematológica e no desenvolvimento terapêutico para a caracterização de anticorpos monoclonais direcionados para o GPRC5D, ativadores bispecíficos de células T, conjugados anticorpo-fármaco e terapias com células CAR-T ou CAR-NK. O sistema de expressão recombinante estável permite a avaliação quantitativa da afinidade de ligação ao antígeno, ocupação do recetor, densidade de expressão na superfície, especificidade do epítopo e citotoxicidade dependente do alvo. Estas células são particularmente valiosas para avaliar a atividade e a seletividade de terapias com células imunitárias modificadas e produtos biológicos de redirecionamento de células T direcionados para neoplasias malignas GPRC5D-positivas. Aplicações adicionais incluem o desenvolvimento de ensaios de citometria de fluxo, ensaios de repórter, triagem de alto rendimento e validação de agentes de imagem específicos para recetores ou reagentes de diagnóstico.
Organism	Humano
Tissue	Rim fetal
Disease	Transformado/imortalizado; não tumorigénico (linha celular HEK293)
Applications	Desenvolvimento de anticorpos direcionados ao GPRC5D e de anticorpos bispecíficos; terapêuticas para o mieloma múltiplo; terapia com células CAR-T; ensaios ADCC/CDC; citometria de fluxo; rastreio imuno-oncológico

Caraterísticas

Age	Feto
Gender	Feminino

Células HEK293-GPRC5D | 305989

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

Dados regulamentares

Citation	HEK293-GPRC5D (número de catálogo da Cytion 305989)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G25
GMO Status	GMO-S1: Esta linha celular HEK293 contém uma construção de expressão do GPRC5D destinada a estudos sobre antigénios do mieloma múltiplo e ao desenvolvimento de terapias direcionadas. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Receptors expressed	GPRC5D

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-GPRC5D | 305989

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-GPRC5D | 305989

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.