Product sheet

Bunky HEK293-CLDN18.2 | 305986

Všeobecné informácie

Description	**Upozornenie: Uvedené ceny buniek sú určené výlučne pre akademických a neziskových zákazníkov. Pre komerčné subjekty je cena približne 6 250 €.** **Ak zastupujete komerčný subjekt alebo si nie ste istí, do ktorej kategórie patríte, prosím, kontaktujte nás.** Bunky HEK293-CLDN18.2 sú bunky ľudských embryonálnych obličiek 293 (HEK293), ktoré boli geneticky upravené tak, aby stabilne exprimovali ľudskú izoformu 2 claudínu 18 (CLDN18.2), transmembránový proteín spojený s tesnými spojmi, ktorý patrí do rodiny claudínov. CLDN18.2 je izoforma špecifická pre žalúdočnú líniu, ktorá je za normálnych okolností obmedzená na diferencované epitelové bunky žalúdočnej sliznice, kde sú jej extracelulárne domény za fyziologických podmienok z veľkej časti nedostupné. Pri malígnej transformácii narušenie epitelovej polarity a architektúry tesných spojení vystavuje CLDN18.2 na povrchu nádorových buniek, čo vedie k jeho nadmernej expresii a dostupnosti v niekoľkých typoch rakoviny, vrátane adenokarcinómu žalúdka, rakoviny gastroezofageálneho prechodu, rakoviny pankreasu a iných malígnych ochorení gastrointestinálneho traktu. Vzhľadom na svoju veľmi obmedzenú distribúciu v normálnych tkanivách a expozíciu spojenú s nádormi sa CLDN18.2 stal klinicky dôležitým terapeutickým cieľom v onkológii. Bunky HEK293-CLDN18.2 sa široko používajú na vývoj a charakterizáciu liečiv zameraných na CLDN18.2, vrátane monoklonálnych protilátok, konjugátov protilátok a liekov, bispecifických protilátok, terapií CAR-T a CAR-NK bunkami a cielených zobrazovacích činidiel. Stabilný rekombinantný expresný systém umožňuje kvantitatívnu analýzu afinity viazania antigénu, špecificity epitopu, hustoty receptora, kinetiky internalizácie a cytotoxicity závislej od cieľa. Tieto bunky sa tiež bežne používajú v prietokových cytometrických testoch, reportérových testoch, pracovných postupoch skríningu protilátok a štúdiách funkcie imunitných efektorov určených na hodnotenie protilátkovo-závislej bunkovej cytotoxicity (ADCC) alebo komplementovo-závislej cytotoxicity (CDC). Keďže bunky HEK293 podporujú robustnú expresiu rekombinantných membránových proteínov a efektívne rozmnožovanie, poskytujú spoľahlivú platformu pre štandardizovaný vývoj testov CLDN18.2 a terapeutickú validáciu.
Organism	Ľudské
Tissue	Fetálne obličky
Disease	Transformované/imortalizované; netumorogénne (na základe buniek HEK293)
Applications	Vývoj protilátok a ADC zameraných na CLDN18.2; terapia pomocou CAR-T/CAR-NK buniek; testy ADCC/CDC; prietoková cytometria; liečba rakoviny žalúdka, prechodu žalúdka a pažeráka (GEJ) a pankreasu

Charakteristika

Age	Plod
Gender	Ženy

Bunky HEK293-CLDN18.2 | 305986

Morphology	Epitelu podobné
Cell type	Epitelové bunky
Growth properties	Monovrstva, priliehajúca

Regulačné údaje

Citation	HEK293-CLDN18.2 (katalógové číslo Cytion 305986)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_E5J2
GMO Status	GMO-S1: Táto bunková línia HEK293 obsahuje expresný konštrukt CLDN18.2 určený na výskum antigénov tesných spojení a vývoj cielených onkologických terapií. Táto klasifikácia platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje

Surface antigens	CLDN18.2
Receptors expressed	CDLN18.2

Spracovanie

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Do živného média pridajte 10 % FBS, 1 mM pyruvát sodný, 10 mM HEPES a 1 % NEAA. Pridajte blasticidín (hydrochlorid blasticidínu) tak, aby sa dosiahla konečná koncentrácia 5 µg/ml.
Dissociation Reagent	Trypsín-EDTA
Doubling time	cca 24–36 hodín

Bunky HEK293-CLDN18.2 | 305986

Subculturing	Na bežné adherentné bunkové kultúry: Odstráňte staré kultivačné médium z adherentných buniek a premyte ich PBS, aby ste odstránili zvyšné médium. Po odsatí PBS pridajte príslušný objem roztoku trypsínu/EDTA podľa veľkosti kultivačnej nádoby (napr. 1 ml pre banku T25, 3 ml pre banku T75) a inkubujte pri izbovej teplote alebo 37 °C, kým sa bunky neoddelia (5 - 10 minút). Oddeľovanie sledujte pod mikroskopom a v prípade potreby jemne poklepte na nádobu, aby sa bunky uvoľnili. Po oddelení pridajte kompletné médium na inaktiváciu trypsínu/EDTA, jemne resuspendujte bunky a alikvotnú časť bunkovej suspenzie preneste do novej kultivačnej nádoby obsahujúcej čerstvé médium. Nádobu umiestnite do inkubátora nastaveného na 37 °C s 5 % $_{CO2}$ a médium vymieňajte každé 2 - 3 dni.
Split ratio	1 až 5
Seeding density	2 až 4 x 10^{4} buniek/cm^{2}
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení rozdeľte bunky v pomere 1:2 až 1:3 do banky T25 a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazovania a priľnúť (v prípade adhezívnych kultúr) aspoň 24 hodín.
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Bunky HEK293-CLDN18.2 | 305986

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Bunky HEK293-CLDN18.2 | 305986

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.