Product sheet

Celice HEK293-GPRC5D | 305989

Splošne informacije

Description	**Opomba: Cene, prikazane za celične linije, veljajo izključno za akademsko in neprofitno javnost. Za komercialne subjekte znaša cena približno 6.250 €.** **Če zastopate komercialni subjekt ali niste prepričani, v katero kategorijo spadate, vas prosimo, da nas kontaktirate.** Celice HEK293-GPRC5D so človeške embrionalne ledvične celice 293 (HEK293), ki so bile genetsko spremenjene za stabilno izražanje člana D skupine 5 družine C človeških receptorjev, vezanih na G-proteine (GPRC5D), ki je sirotiški receptor iz družine receptorjev, vezanih na G-proteine razreda C. GPRC5D kaže zelo omejeno izražanje v normalnih tkivih, pri čemer je prevladujoče izražanje opisano v lasnih mešičkih, keratiniziranih tkivih in plazmatskih celicah. Pomembno je, da je receptor močno izražen pri multiplih mielomih in nekaterih drugih malignih obolenjih plazmatskih celic, kjer sta njegova omejena porazdelitev v normalnih tkivih in močno izražanje, povezano s tumorjem, iz njega naredili pomemben cilj za razvoj imunoterapije, zlasti pri bolnikih, ki doživijo ponovitev bolezni po terapijah, usmerjenih proti BCMA. Celice HEK293-GPRC5D se široko uporabljajo v raziskavah hematološke onkologije in razvoju terapij za karakterizacijo monoklonskih protiteles, usmerjenih proti GPRC5D, bispecifičnih vezalcev T-celic, konjugatov protiteles in zdravil ter terapij s celicami CAR-T ali CAR-NK. Stabilen rekombinantni ekspresijski sistem omogoča kvantitativno oceno afinitete vezave antigena, zasedenosti receptorja, gostote površinske ekspresije, specifičnosti epitopa in ciljno odvisne citotoksičnosti. Te celice so še posebej dragocene za ocenjevanje aktivnosti in selektivnosti terapij z inženirskimi imunskimi celicami ter bioloških zdravil za preusmerjanje T-celic, usmerjenih v GPRC5D-pozitivne malignome. Dodatne aplikacije vključujejo razvoj testov s pretočno citometrijo, reporterne teste, presejanje z visoko zmogljivostjo ter validacijo receptor-specifičnih sredstev za slikanje ali diagnostičnih reagentov.
Organism	Človek
Tissue	Plodove ledvice
Disease	Preoblikovano/imortalizirano; netumorogeno (na podlagi celic HEK293)
Applications	Razvoj protiteles, usmerjenih proti GPRC5D, in bispecifičnih protiteles; zdravila za zdravljenje multiplega mieloma; terapija s CAR-T-celicami; testi ADCC/CDC; pretočna citometrija; presejanje na področju imunoonkologije

Značilnosti

Age	Plod
Gender	Ženske
Morphology	Epitelijam podobni

Product sheet

Celice HEK293-GPRC5D | 305989

Cell type	Epitelijske celice
Growth properties	Enoslojni, adherentni

Regulativni podatki

Citation	HEK293-GPRC5D (kataloška številka Cytion 305989)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G25
GMO Status	GMO-S1: Ta celična linija HEK293 vsebuje ekspresijski konstrukt GPRC5D za raziskave antigenov pri multiplih mielomih in razvoj ciljnega zdravljenja. Ta klasifikacija velja le v Nemčiji in se drugod lahko razlikuje.

Biomolekularni podatki

Receptors expressed	GPRC5D

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO3 (številka izdelka Cytion 820700a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS, 1 mM natrijevega piruvata, 10 mM HEPES, 1 % NEAA. Dodajte geneticin (G418-Sulfat), da dosežete končno koncentracijo 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Tripsin-EDTA
Doubling time	približno 24–36 ur

Celice HEK293-GPRC5D | 305989

Subculturing	Za rutinsko gojenje adherentnih celic: Iz adherentnih celic odsesajte staro gojišče in jih sperite s PBS, da odstranite preostalo gojišče. Po odsesanju PBS dodajte ustrezno količino raztopine tripsina/EDTA glede na velikost posode za gojenje (npr. 1 ml za bučko T25, 3 ml za bučko T75) in inkubirajte pri sobni temperaturi ali 37 °C, dokler se celice ne ločijo (5-10 minut). Odlepitev spremljajte pod mikroskopom in po potrebi nežno potrkajte posodo, da se celice sprostijo. Ko se celice odcepijo, dodajte popolno gojišče za inaktivacijo tripsina/EDTA, nežno ponovno suspendirajte celice in prenesite alikvot celične suspenzije v novo posodo za gojenje s svežim gojiščem. Posodo postavite v inkubator, nastavljen na 37 °C s 5 $\%_{CO2}$, in gojišče zamenjajte vsake 2 do 3 dni.
Split ratio	1 do 5
Seeding density	2 do 4 x 10^4 celic/cm^2
Fluid renewal	2 do 3-krat na teden
Post-Thaw Recovery	Po odmrznitvi celice razdelite v razmerju 1:2 do 1:3 v bučke T25 in pustite, da si celice opomorejo od postopka zamrzovanja in da se zlepijo (za lepljive kulture) vsaj 24 ur.
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice HEK293-GPRC5D | 305989

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavrzite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, vlažno ozračje.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Celice HEK293-GPRC5D | 305989

Sterility	Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence. Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.