Product sheet

Buňky HEK293-CCR8 | 305426

Obecné informace

Description	**Upozornění: Ceny uvedené u buněčných linií platí výhradně pro akademické a neziskové zákazníky. Pro komerční subjekty činí cena přibližně 6 250 EUR.** **Pokud zastupujete komerční subjekt nebo si nejste jisti, do které kategorie spadáte, prosím nás kontaktujte.** Buněčná linie HEK293-CCR8 je stabilní rekombinantní buněčná linie HEK293, která byla geneticky upravena tak, aby exprimovala receptor CCR8 na středně vysoké úrovni, přibližně 22 000 molekul na buňku. Tato buněčná linie byla vyvinuta pomocí technologie „landing pad“ společnosti inscreenex, která zajišťuje přesnou a reprodukovatelnou integraci genu CCR8 na specifickém, předem ověřeném genomovém lokusu. CCR8, známý také jako CHEMR1 nebo CDw198, je receptor spřažený s G proteinem (GPCR), který je exprimován převážně na regulačních T buňkách (Tregs). Hraje klíčovou roli v potlačení imunitních reakcí v mikroprostředí nádoru a pomáhá nádorovým buňkám vyhnout se imunitní detekci. Díky své roli při udržování imunosupresivního prostředí se CCR8 stal slibným cílem pro nové imunoterapie rakoviny zaměřené na posílení protinádorové imunity snížením potlačení zprostředkovaného Treg. Exprese CCR8 v této buněčné linii byla potvrzena pomocí průtokové cytometrie s protilátkou specifickou pro cíl, což zajistilo konzistentní a spolehlivou hustotu receptorů v celé buněčné populaci.
Organism	Člověk
Tissue	Fetální ledvina
Disease	Transformované/imortalizované; netumorogenní (na pozadí HEK293)
Applications	Výzkum imunoterapie; farmakologie GPCR; vývoj protilátek zaměřených na CCR8; testy CAR-T buněk; screening v oblasti imunoonkologie; biologie Treg buněk

Charakteristika

Age	Plod
Gender	Ženy
Morphology	Epitelu podobné
Cell type	Epitelové buňky
Growth properties	Monovrstva, adherentní

Buňky HEK293-CCR8 | 305426

Regulační údaje

Citation	HEK293-CCR8 (katalogové číslo Cytion 305426)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G18
GMO Status	GMO-S1: Tato buněčná linie HEK293 obsahuje expresní konstrukt CCR8, který umožňuje studium signalizace chemokinových receptorů. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Receptors expressed	CCR8 (CHEMR1 nebo CDw198)

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Médium doplňte 10% FBS, 1 mM pyruvátem sodným, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Přidejte geneticin (G418-Sulfat), abyste dosáhli konečné koncentrace 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Trypsin-EDTA
Doubling time	cca 24–36 hodin
Subculturing	Pro běžné kultivace adherentních buněk: Z adherentních buněk odsaďte staré kultivační médium a promyjte je PBS, abyste odstranili veškeré zbývající médium. Po odsátí PBS přidejte odpovídající objem roztoku trypsinu/EDTA podle velikosti kultivační nádoby (např. 1 ml pro baňku T25, 3 ml pro baňku T75) a inkubujte při pokojové teplotě nebo 37 °C, dokud se buňky neoddělí (5-10 minut). Oddělování sledujte pod mikroskopem a v případě potřeby jemně poklepejte na nádobu, aby se buňky uvolnily. Po oddělení přidejte kompletní médium k inaktivaci trypsinu/EDTA, jemně resuspendujte buňky a alikvotní část buněčné suspenze přeneste do nové kultivační nádoby obsahující čerstvé médium. Umístěte nádobu do inkubátoru nastaveného na 37 °C s 5 % $_{CO2}$ a každé 2 až 3 dny vyměňte médium.
Split ratio	1 až 5

Buňky HEK293-CCR8 | 305426

Seeding density	2 až 4 x 10^{4} buněk/cm^{2}
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení rozdělte buňky v poměru 1:2 až 1:3 do baněk T25 a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazování a adherovat (v případě adherujících kultur).
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Buňky HEK293-CCR8 | 305426

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 %$_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.