Product sheet

Κύτταρα HEK293-CCR8 | 305426

Γενικές πληροφορίες

Description	**Αποποίηση ευθυνών: Οι τιμές που εμφανίζονται για τις κυτταρικές γραμμές είναι αποκλειστικά για μη κερδοσκοπικούς πελάτες. Εάν εκπροσωπείτε εμπορική οντότητα, παρακαλούμε επικοινωνήστε μαζί μας για εναλλακτικές τιμές.** Η κυτταρική σειρά HEK293-CCR8 είναι μια σταθερή ανασυνδυασμένη κυτταρική σειρά HEK293, η οποία έχει σχεδιαστεί για να εκφράζει τον υποδοχέα CCR8 σε μεσαίο-υψηλό επίπεδο, περίπου 22.000 μόρια ανά κύτταρο. Αυτή η κυτταρική σειρά αναπτύχθηκε με τη χρήση της τεχνολογίας landing pad της inscreenex, εξασφαλίζοντας την ακριβή και αναπαραγώγιμη ενσωμάτωση του γονιδίου CCR8 σε έναν συγκεκριμένο, προ-επιβεβαιωμένο γονιδιωματικό τόπο. Ο CCR8, επίσης γνωστός ως CHEMR1 ή CDw198, είναι ένας υποδοχέας συζευγμένος με πρωτεΐνη G (GPCR) που εκφράζεται κυρίως στα ρυθμιστικά Τ κύτταρα (Tregs). Διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην καταστολή των ανοσολογικών αποκρίσεων εντός του μικροπεριβάλλοντος του όγκου, βοηθώντας τα καρκινικά κύτταρα να αποφεύγουν την ανοσολογική ανίχνευση. Λόγω του ρόλου του στη διατήρηση ενός ανοσοκατασταλτικού περιβάλλοντος, ο CCR8 έχει γίνει ένας πολλά υποσχόμενος στόχος για νέες ανοσοθεραπείες κατά του καρκίνου που αποσκοπούν στην ενίσχυση της ανοσίας κατά του όγκου μέσω της μείωσης της καταστολής που μεσολαβεί από τα Treg. Η έκφραση του CCR8 σε αυτή την κυτταρική σειρά επιβεβαιώθηκε με τη χρήση κυτταρομετρίας ροής με ένα ειδικό για τον στόχο αντίσωμα, εξασφαλίζοντας σταθερή και αξιόπιστη πυκνότητα υποδοχέα σε όλο τον κυτταρικό πληθυσμό.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Εμβρυϊκός νεφρός

Χαρακτηριστικά

Age	Έμβρυο
Gender	Γυναίκα
Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HEK293-CCR8 (αριθμός καταλόγου Cytion 305426)
Biosafety level	1

Κύτταρα HEK293-CCR8 | 305426

NCBI_TaxID	9606
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η σειρά κυττάρων HEK293 περιέχει μια κατασκευή έκφρασης CCR8, επιτρέποντας μελέτες σηματοδότησης υποδοχέων χημειοκινών. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	CCR8 (CHEMR1 ή CDw198)

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 1 mM πυρουβικό νάτριο, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Προσθέστε Geneticin (G418-Sulfat) για να επιτευχθεί τελική συγκέντρωση 1 mg/mL.
Dissociation Reagent	Τρυψίνη-EDTA
Subculturing	Για συνήθη καλλιέργεια προσκολλημένων κυττάρων: Αναρροφήστε το παλιό μέσο καλλιέργειας από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS για να απομακρύνετε τυχόν εναπομείναν μέσο. Αφού αναρροφήσετε το PBS, προσθέστε τον κατάλληλο όγκο διαλύματος Trypsin/EDTA με βάση το μέγεθος του δοχείου καλλιέργειας (π.χ. 1 ml για φιάλη T25, 3 ml για φιάλη T75) και επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου ή 37°C έως ότου αποκολληθούν τα κύτταρα (5-10 λεπτά). Παρακολουθήστε την αποκόλληση στο μικροσκόπιο και χτυπήστε απαλά το δοχείο εάν είναι απαραίτητο για να απελευθερώσετε τα κύτταρα. Αφού αποκολληθούν, προσθέστε πλήρες μέσο για να αδρανοποιήσετε την Τρυψίνη/EDTA, ανασυσσωματώστε απαλά τα κύτταρα και μεταφέρετε μια εκατοστιαία ποσότητα του εναιωρήματος των κυττάρων σε ένα νέο δοχείο καλλιέργειας που περιέχει φρέσκο μέσο. Τοποθετήστε το δοχείο σε επωαστήρα ρυθμισμένο στους 37°C με 5% $_{CO2}$ και αλλάζετε το μέσο κάθε 2-3 ημέρες.
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, χωρίστε τα κύτταρα σε αναλογία 1:2 έως 1:3 σε φιάλες T25 και αφήστε τα κύτταρα να ανακάμψουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες. Για καλύτερη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη των κυττάρων, συνιστούμε τη χρήση φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου για την αρχική σπορά μετά την κρυοανάκτηση. Η επίστρωση κολλαγόνου δεν απαιτείται για την επακόλουθη συνήθη καλλιέργεια των κυττάρων.

Κύτταρα HEK293-CCR8 | 305426

Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Κύτταρα HEK293-CCR8 | 305426

Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.