

HEK293-CCR8 ląstelės | 305426

Bendra informacija

Description

Atsakomybės apribojimas: Nurodytos ląstelių linijų kainos taikomos tik akademiniams ir nekomerciniams klientams. Komercinėms įmonėms kaina yra apie 6 250 eurų.

Jei atstovaujate komercinei įmonei arba nesate tikri, kuri kategorija jums taikoma, prašome [susisiekti su mumis](#).

HEK293-CCR8 ląstelių linija yra stabili rekombinantinė HEK293 ląstelių linija, sukurta taip, kad ekspresuotų CCR8 receptorių vidutiniu-aukštu lygiu, maždaug 22 000 molekulių vienoje ląstelėje. Ši ląstelių linija buvo sukurta naudojant „inscreenex“ „landing pad“ technologiją, užtikrinančią tikslų ir atkartojamą CCR8 geno integravimą į konkretų, iš anksto patvirtintą genomo lokusą. CCR8, taip pat žinomas kaip CHEMR1 arba CDw198, yra G baltymų jungiamasis receptorių (GPCR), kuris daugiausia ekspresuojamas reguliuojančiose T ląstelėse (Treg). Jis atlieka lemiamą vaidmenį slopinamas imuninius atsakus naviko mikroaplinkoje, padėdamas naviko ląstelėms išvengti imuninės sistemos aptikimo. Dėl savo vaidmens palaikant imuninę aplinką, CCR8 tapo perspektyviu taikiniu naujoms vėžio imunoterapijoms, kurių tikslas – stiprinti priešnavikinį imunitetą, mažinant Treg ląstelių sukeltą slopinimą.

CCR8 ekspresija šioje ląstelių linijoje buvo patvirtinta naudojant srauto citometriją su tikslinio antikūno pagalba, užtikrinant nuoseklų ir patikimą receptorių tankį visoje ląstelių populiacijoje.

Organism

Žmogus

Tissue

Vaisiaus inkstai

Disease

Transformuotas/imortalizuotas; nesukelia navikų (HEK293 fonas)

Applications

Imunoterapijos tyrimai; GPCR farmakologija; CCR8 receptorių taikiniais laikomų antikūnų kūrimas; CAR-T ląstelių tyrimai; imunoonkologinis atranka; Treg ląstelių biologija

Charakteristikos

Age

Vaisius

Gender

Moteris

Morphology

Į epitelį panašus

Cell type

Epitelio ląstelės

Growth properties

Viensluoksnis, prigludęs

HEK293-CCR8 ląstelės | 305426

Reguliavimo duomenys

Citation	HEK293-CCR8 (Cytion katalogo numeris 305426)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G18
GMO Status	GMO-S1: šioje HEK293 ląstelių linijoje yra CCR8 raiškos konstruktas, leidžiantis atlikti chemokinių receptorių signalų tyrimus. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed	CCR8 (CHEMR1 arba CDw198)
---------------------	---------------------------

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS, 1 mM natrio piruvatu, 10 mM HEPES, 1 % NEAA. Pridėkite genetinco (G418-Sulfat), kad galutinė koncentracija būtų 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Trypsino ir EDTA
Doubling time	maždaug 24–36 valandos
Subculturing	Įprastinėms adherentinėms ląstelių kultūroms: Kad pašalintumėte visą likusią terpę, iš adherentinių ląstelių išsiurbkite seną terpę ir nuplaukite jas PBS. Išsiurbę PBS, įpilkite reikiamą kiekį tripsino ir EDTA tirpalo, atsižvelgiant į kultūros indo dydį (pvz., 1 ml T25 kolbai, 3 ml T75 kolbai), ir inkubuokite kambario arba 37 °C temperatūroje, kol ląstelės atsiskirs (5–10 min.). Stebėkite atsiskyrimą per mikroskopą ir, jei reikia, švelniai palieskite indą, kad ląstelės išsilaisvintų. Kai ląstelės atsiskiria, įpilkite pilną terpę, kad būtų inaktyvuotas tripsinas/EDTA, atsargiai reuspenduokite ląsteles ir perkeltite alikvotą ląstelių suspensijos į naują auginimo indą su šviežia terpe. Įstatykite indą į inkubatorių, kuriame nustatyta 37 °C temperatūra ir 5 % CO ₂ , o terpę keiskite kas 2–3 dienas.
Split ratio	1–5

HEK293-CCR8 ląstelės | 305426

Seeding density 2–4 x 10⁴ ląstelės/cm²

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Post-Thaw Recovery Po atšildymo suskirstykite ląsteles santykiu 1:2-1:3 į T25 kolbas ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso bei sukibti (jei tai adherencinės kultūros) mažiausiai 24 valandas.

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkeldami į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

HEK293-CCR8 ląstelės | 305426

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating Nėra

Freezing Procedure Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.