Product sheet

HEK293-CCR8 šūnas | 305426

Vispārīga informācija

Description	**Atbrīvojums no atbildības: Norādītās šūnu līniju cenas attiecas tikai uz akadēmiskajiem/bezpeļņas klientiem. Komerciālām organizācijām cena ir aptuveni 6250 eiro.** **Ja pārstāvat komerciālu organizāciju vai neesat pārliecināts, kura kategorija uz jums attiecas, lūdzu, sazinieties ar mums.** HEK293-CCR8 šūnu līnija ir stabila rekombinanta HEK293 šūnu līnija, kas izstrādāta, lai ekspresētu CCR8 receptoru vidēji augstā līmenī, aptuveni 22 000 molekulu uz šūnu. Šī šūnu līnija tika izstrādāta, izmantojot inscreenex “landing pad” tehnoloģiju, kas nodrošina precīzu un reproducējamu CCR8 gēna integrāciju specifiskā, iepriekš validētā genomiskā lokusā. CCR8, pazīstams arī kā CHEMR1 vai CDw198, ir G proteīnu saistīts receptors (GPCR), kas galvenokārt tiek ekspresēts regulējošajās T šūnās (Tregs). Tam ir izšķiroša loma imūnreakciju nomākšanā audzēja mikroapvidū, palīdzot audzēja šūnām izvairīties no imūnsistēmas atklāšanas. Pateicoties savai lomai imūnsupresīvās vides uzturēšanā, CCR8 ir kļuvis par daudzsološu mērķi jaunām vēža imūnterapijām, kuru mērķis ir pastiprināt pretvēža imunitāti, samazinot Treg-mediētu supresiju. CCR8 ekspresija šajā šūnu līnijā tika apstiprināta, izmantojot plūsmas citometriju ar mērķa specifisku antivielu, nodrošinot vienmērīgu un uzticamu receptoru blīvumu visā šūnu populācijā.
Organism	Cilvēks
Tissue	Augļa nieres
Disease	Pārveidots/imortalizēts; neizraisa audzēju veidošanos (HEK293 fons)
Applications	Imunoterapijas pētījumi; GPCR farmakoloģija; CCR8 mērķa antivielu izstrāde; CAR-T šūnu analīzes; imūnonkoloģijas skrīnings; Treg šūnu bioloģija

Raksturojums

Age	Auglis
Gender	Sievietes
Morphology	Epitēlijveidīgs
Cell type	Epitēlija šūnas
Growth properties	Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Product sheet

HEK293-CCR8 šūnas | 305426

Citation	HEK293-CCR8 (Cytion kataloga numurs 305426)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_6G18
GMO Status	GMO-S1: šī HEK293 šūnu līnija satur CCR8 ekspresijas konstrukciju, kas ļauj veikt ķīmokīnu receptoru signālu pētījumus. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati

Receptors expressed	CCR8 (CHEMR1 vai CDw198)

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildiniet barotni ar 10% FBS, 1 mM nātrija piruvātu, 10 mM HEPES, 1% NEAA. Pievienojiet ģenētiķīnu (G418-Sulfat), lai sasniegtu galīgo koncentrāciju 1 mg/ml.
Dissociation Reagent	Tripsīns-EDTA
Doubling time	aptuveni 24–36 stundas
Subculturing	Parastai adherentu šūnu kultūrai: Lai noņemtu atlikušo barotni, aspirējiet veco barotni no pielipušajām šūnām un izskalojiet tās ar PBS, lai noņemtu atlikušo barotni. Pēc PBS atsūknēšanas pievienojiet atbilstošu tripsīna/EDTA šķīduma tilpumu atkarībā no kultūras trauka lieluma (piemēram, 1 ml T25 kolbai, 3 ml T75 kolbai) un inkubējiet istabas temperatūrā vai 37 °C, līdz šūnas atdalās (5-10 minūtes). Novērot atdalīšanos ar mikroskopu un, ja nepieciešams, viegli piesitiet trauku, lai atbrīvotu šūnas. Pēc atdalīšanās pievienot pilnu barotni, lai inaktivētu tripsīnu/EDTA, uzmanīgi resuspendēt šūnas un šūnu suspensijas alikvotu pārvietot jaunā barotnē ar svaigu barotni. Ievietot trauku inkubatorā, kas iestatīts 37 °C temperatūrā ar 5 % $_{CO2}$, un ik pēc 2-3 dienām mainīt barotni.
Split ratio	no 1 līdz 5
Seeding density	2 līdz 4 x 10^4 šūnas/cm^2

HEK293-CCR8 šūnas | 305426

Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas sadaliet šūnas T25 kolbās proporcijā 1:2 līdz 1:3 un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un salipt (adhēzijas kultūrām) vismaz 24 stundas.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens

Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.