

## Клітини HEK293-CCR8 | 305426

## Загальна інформація

## Description

**Відмова від відповідальності: Ціни на клітинні лінії вказані виключно для некомерційних клієнтів. Якщо ви представляєте комерційну організацію, будь ласка, зв'яжіться з нами для отримання альтернативних цін.**

Клітинна лінія HEK293-CCR8 - це стабільна рекомбінантна лінія клітин HEK293, сконструйована для експресії рецептора CCR8 на середньо-високому рівні, приблизно 22 000 молекул на клітину. Ця клітинна лінія була розроблена з використанням технології посадкового майданчика inscreeplex, що забезпечує точну і відтворювану інтеграцію гена CCR8 в певний, попередньо валідований геномний локус. CCR8, також відомий як CHEMR1 або CDw198, - це G-білок-зв'язаний рецептор (GPCR), який переважно експресується на регуляторних Т-клітинах (Tregs). Він відіграє вирішальну роль у пригніченні імунних реакцій в мікрооточенні пухлини, допомагаючи пухлинним клітинам уникати імунного виявлення. Завдяки своїй ролі у підтримці імуносупресивного середовища, CCR8 став перспективною мішенню для нових методів імунотерапії раку, спрямованих на посилення протипухлинного імунітету шляхом зменшення Treg-опосередкованої супресії.

Експресія CCR8 в цій клітинній лінії була підтверджена за допомогою проточної цитофлуориметрії з мішень-специфічними антитілами, що забезпечило послідовну та надійну щільність рецепторів у всій популяції клітин.

**Organism** Людина

**Tissue** Ембріональна нирка

## Характеристики

**Age** Плід

**Gender** Жінка

**Morphology** Епітеліальноподібні

**Growth properties** Одношаровий, адгезійний

## Нормативні дані

**Citation** HEK293-CCR8 (номер за каталогом Cytion 305426)

**Biosafety level** 1

## Клітини HEK293-CCR8 | 305426

**NCBI\_TaxID** 9606**GMO Status** ГМО-S1: Ця клітинна лінія HEK293 містить експресійну конструкцію CCR8, що дозволяє досліджувати сигналізацію хемокінових рецепторів. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

## Біомолекулярні дані

**Receptors expressed** CCR8 (CHEMR1 або CDw198)

## Обробка

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO<sub>3</sub> (номер за каталожним номером 820700a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS, 1 мМ пірвату натрію, 10 мМ HEPES, 1% NEAA. Додайте генетин (G418-Sulfat) для досягнення кінцевої концентрації 1 мг/мл.**Dissociation Reagent** Трипсин-ЕДТА**Subculturing** Для рутинного культивування адгезивних клітин: Аспіруйте старе культуральне середовище з адгезивних клітин і промийте їх PBS, щоб видалити залишки середовища. Після аспірації PBS додайте відповідний об'єм розчину трипсину/ЕДТА залежно від розміру культуральної посудини (наприклад, 1 мл для колби T25, 3 мл для колби T75) та інкубуйте при кімнатній температурі або 37°C до відокремлення клітин (5-10 хвилин). Спостерігайте за відшаруванням під мікроскопом і, якщо необхідно, обережно постукайте по посудині, щоб звільнити клітини. Після відокремлення додайте повне середовище для інактивації трипсину/ЕДТА, обережно ресуспендуйте клітини і перенесіть аліквоту клітинної суспензії в нову культуральну посудину зі свіжим середовищем. Помістіть посудину в інкубатор, налаштований на 37°C з 5% CO<sub>2</sub>, і міняйте середовище кожні 2-3 дні.**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Post-Thaw Recovery** Після розморожування розділіть клітини у співвідношенні 1:2 - 1:3 у колбах T25 і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування і прилипнути протягом щонайменше 24 годин.

Для кращої адгезії та життєздатності клітин після розморожування ми рекомендуємо використовувати колби або планшети з колагеновим покриттям для первинного посіву після крові відновлення. Для подальшого рутинного культивування клітин колагенове покриття не потрібне.

## Клітини HEK293-CCR8 | 305426

### Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

### Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

### Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

## Клітини HEK293-CCR8 | 305426

### Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.