

Клетки CT26.CL25 | 305353

Обща информация

Description

Клетъчната линия CT26.CL25 е модел на миши карцином на дебелото черво, получен от родителската клетъчна линия CT26, която е химически индуциран, недиференциран карцином на дебелото черво, получен от мишки BALB/c. CT26.CL25 е генетично модифицирана, за да експресира протеина β -галактозидаза (β -gal), което я прави отличен модел за изучаване на туморната имунология и имунотерапия, особено в контекста на тумор-асоциираните антигени (ТАА). Тази модификация позволява провеждането на специфични имунологични изследвания, насочени към β -gal като неоантиген, което улеснява изследванията на механизмите на избягване на туморната имунна защита и разработването на противоракови ваксини или адаптивни клетъчни терапии.

CT26.CL25 е използван в предклинични модели за изследване на имунните реакции и ефикасността на имунотерапите, като например използването на дендритни клетки (DCs), заредени с туморно-асоциирани антигени. Проучванията показват, че имунизационните стратегии, използващи ДК, натоварени с пептиди, получени от ретровирусни антигени, като gp70, могат да предизвикат силни противотуморни имунни отговори. В експериментални модели е наблюдавано активиране на CD8+ цитотоксични Т-лимфоцити (CTL), специфични за gp70, което показва полезността на клетъчната линия за тестване на имунотерапевтични подходи. Имунизацията с такива натоварени с пептиди ДК обаче показва ограничения, особено при лечението на установени метастази, което подчертава предизвикателствата при превръщането на профилактичните имунни отговори в терапевтична ефикасност.

Освен това CT26.CL25 често се използва в изследванията за изпитване на ефикасността на комбинирани подходи за имунотерапия, като например използването на инхибитори на имунната контролна точка или ваксини срещу рак. Например в проучвания е оценено въздействието на метронерна химиотерапия, комбинирана с инхибитори на имунната контролна точка, при която индуцирането на имуогенна клетъчна смърт (ICD) в CT26.CL25 е от решаващо значение за засилване на противотуморния имуен отговор. Тези изследвания показваха, че таргетирането на имунните контролни точки може да синергизира с химиотерапията, за да се увеличи процентът на отхвърляне на тумора и да се установи дългосрочна имунологична памет.

Organism

Мишка

Tissue

Дебело черво

Disease

Аденокарцином

Synonyms

CT26-клон 25

Характеристики

Breed/Subspecies

BALB/c

Age

Неуточнено

Клетки CT26.CL25 | 305353

Gender	Жена
Morphology	Фибробласти
Growth properties	Придържачи се

Регулаторни данни

Citation	CT26.CL25 (каталожен номер 305353 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_7255
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия на карцином на дебелото черво при мишки (CT26.CL25) съдържа ретровирусен вектор, кодиращ lacZ и Tn5-нео, който позволява експресия на β -галактозидаза и устойчивост към неомицин. Конструкцията е стабилно интегрирана в клетките CT26. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекуларни данни

Antigen expression	H-2d
Tumorigenic	Да, при мишки BALB/c
Products	Експресирани гени: бета галактозидаза (beta-gal), H-2D
Mutational profile	Изтриване на гени: Cdkn2a, хомозиготен; Мутация: Kras, p.Gly12Asp (с.35G>A), хомозиготна

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS, 1% NEAA, 0,4 mg/ml G418, добавете 2,5 g/L глюкоза и 10 mM HEPES

Клетки CT26.CL25 | 305353

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки CT26.CL25 | 305353

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки CT26.CL25 | 305353

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.