

Κύτταρα CT26.CL25 | 305353

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά CT26.CL25 είναι ένα μοντέλο καρκινώματος παχέος εντέρου ποντικού που προέρχεται από τη γονική κυτταρική σειρά CT26, η οποία είναι ένα χημικά επαγόμενο, αδιαφοροποίητο καρκίνωμα παχέος εντέρου που προέρχεται από ποντίκια BALB/c. Η CT26.CL25 έχει τροποποιηθεί γενετικά ώστε να εκφράζει την πρωτεΐνη β-γαλακτοσιδάση (β-gal), γεγονός που την καθιστά εξαιρετικό μοντέλο για τη μελέτη της ανοσολογίας και της ανοσοθεραπείας των όγκων, ιδίως στο πλαίσιο των αντιγόνων που σχετίζονται με τον όγκο (TAAs). Η τροποποίηση αυτή επιτρέπει ειδικές ανοσολογικές μελέτες που στοχεύουν στη β-gal ως νεοαντιγόνο, διευκολύνοντας την έρευνα των μηχανισμών ανοσολογικής αποφυγής του όγκου και την ανάπτυξη εμβολίων κατά του καρκίνου ή υιοθετικών κυτταρικών θεραπειών.

Το CT26.CL25 έχει χρησιμοποιηθεί σε προκλινικά μοντέλα για τη διερεύνηση των ανοσολογικών αποκρίσεων και της αποτελεσματικότητας των ανοσοθεραπειών, όπως η χρήση δενδριτικών κυττάρων (DC) φορτωμένων με αντιγόνα που σχετίζονται με τον όγκο. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι στρατηγικές ανοσοποίησης που χρησιμοποιούν DCs παλλόμενα με πεπτιδία προερχόμενα από ρετροϊκά αντιγόνα, όπως το gp70, μπορούν να προκαλέσουν ισχυρές ανοσολογικές αποκρίσεις κατά του όγκου. Σε πειραματικά μοντέλα, παρατηρήθηκε η ενεργοποίηση CD8+ κυτταροτοξικών Τ λεμφοκυττάρων (CTLs) ειδικών για το gp70, γεγονός που καταδεικνύει τη χρησιμότητα της κυτταρικής σειράς στη δοκιμή ανοσοθεραπευτικών προσεγγίσεων. Ωστόσο, η ανοσοποίηση με τέτοιου είδους DCs φορτωμένα με πεπτιδία έδειξε περιορισμούς, ιδίως στη θεραπεία εγκατεστημένων μεταστάσεων, αναδεικνύοντας τις προκλήσεις στη μετάφραση των προληπτικών ανοσολογικών αποκρίσεων σε θεραπευτική αποτελεσματικότητα.

Επιπλέον, το CT26.CL25 χρησιμοποιείται συχνά στην έρευνα για τη δοκιμή της αποτελεσματικότητας συνδυασμένων προσεγγίσεων ανοσοθεραπείας, όπως η χρήση αναστολέων σημείων ανοσολογικού ελέγχου ή εμβολίων κατά του καρκίνου. Για παράδειγμα, μελέτες έχουν αξιολογήσει τον αντίκτυπο της μετρονομικής χημειοθεραπείας σε συνδυασμό με αναστολείς των σημείων ανοσολογικού ελέγχου, όπου η επαγωγή ανοσογόνου κυτταρικού θανάτου (ICD) στο CT26.CL25 υπήρξε καθοριστική για την ενίσχυση της ανοσολογικής απάντησης κατά του όγκου. Αυτές οι έρευνες έδειξαν ότι η στόχευση των σημείων ανοσολογικού ελέγχου μπορεί να συνδράμει με τη χημειοθεραπεία για την αύξηση των ποσοστών απόρριψης του όγκου και τη δημιουργία μακροχρόνιας ανοσολογικής μνήμης.

Organism Ποντίκι

Tissue Κόλον

Disease Αδενοκαρκίνωμα

Synonyms CT26-κλώνος 25

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies BALB/c

Age Απροσδιόριστο

Κύτταρα CT26.CL25 | 305353

Gender	Γυναίκα
Morphology	Ινοβλάστες
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	CT26.CL25 (αριθμός καταλόγου Cytion 305353)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_7255
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά καρκινώματος παχέος εντέρου ποντικού (CT26.CL25) περιέχει έναν ρετροϊκό φορέα που κωδικοποιεί τα lacZ και Tn5-neo, επιτρέποντας την έκφραση β-γαλακτοσιδάσης και την αντοχή στη νεομυκίνη. Το κατασκεύασμα ενσωματώνεται σταθερά σε κύτταρα CT26. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Antigen expression	H-2d
Tumorigenic	Ναι, σε ποντίκια BALB/c
Products	Γονίδια που εκφράζονται: β-γαλακτοσιδάση (β-gal), H-2D
Mutational profile	Διαγραφή γονιδίων: Μετάλλαξη: Cdkn2a, ομοζυγωτική: Gly12Asp (c.35G>A), ομόζυγος

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 1% NEAA, 0,4 mg/mL G418, προσθέστε 2,5 g/L γλυκόζης και 10 mM HEPES

Κύτταρα CT26.CL25 | 305353

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

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.

Κύτταρα CT26.CL25 | 305353**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 κρουφιαλίδιο 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 κρουφιαλίδιο 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% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες 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.

Κύτταρα CT26.CL25 | 305353

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Η αποθήκευση στους $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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.