

CT26.CL25 rakud | 305353

Üldine teave

Description

CT26.CL25 rakuliin on hiirte käärsoole kartsinoomi mudel, mis on saadud CT26 vanemrakuliinist, mis on keemiliselt indutseeritud, diferentseerimata käärsoole kartsinoom, mis pärineb BALB/c-hiirtest. CT26.CL25 on geneetiliselt muundatud, et ekspresseerida β -galaktosidaasi (β -gal) valku, mis muudab selle suurepäraseks mudeliks kasvaja immunoloogia ja immunoteraapia uurimiseks, eriti kasvaja seotud antigeenide (TAA) kontekstis. See modifikatsioon võimaldab spetsiifilisi immunoloogilisi uuringuid, mis on suunatud β -galile kui uusantigeenile, hõlbustades kasvaja immuunsüsteemi vältimise mehhanismide uurimist ja vähivaktsiinide või adoptiivse rakuteraapia väljatöötamist.

CT26.CL25 on kasutatud prekliinilistes mudelites, et uurida immuunvastuseid ja immunoteraapiate tõhusust, näiteks kasvaja seotud antigeenidega koormatud dendriitiliste rakkude (DC) kasutamist. Uuringud on näidanud, et immuniseerimisstrateegiad, milles kasutatakse retroviiruse antigeenidest, nagu gp70, saadud peptiididega pulseeritud DC-sid, võivad esile kutsuda tugeva kasvavastase immuunvastuse. Eksperimentaalsetes mudelites täheldati gp70 suhtes spetsiifiliste CD8+ tsütotoksiliste T-lümfotsüütide (CTL) aktiveerimist, mis näitab rakuliini kasulikkust immunoteraapiliste lähenemisviiside testimisel. Siiski on immuniseerimine selliste peptiidiga koormatud DC-dega näidanud piiranguid, eriti väljakujunenud metastaaside ravimisel, mis rõhutab probleeme profülaktilise immuunvastuse muutmisel terapeutiliseks efektiivsuseks.

Lisaks kasutatakse CT26.CL25 sageli uuringutes kombineeritud immunoteraapia lähenemisviiside, näiteks immuunsüsteemi kontrollpunkti inhibiitorite või vähivaktsiinide tõhususe testimiseks. Näiteks on uuringutes hinnatud metronoomse kemoteraapia mõju koos immuunsüsteemi kontrollpunkti inhibiitoritega, kus immunogeense rakusurma (ICD) indutseerimine CT26.CL25-s on olnud otsustava tähtsusega kasvavastase immuunvastuse tugevdamisel. Need uuringud on näidanud, et immuunsüsteemi kontrollpunktide suunamine võib sünergiliselt koos kemoteraapiaga suurendada kasvaja hülgamismäärasid ja luua pikaajalise immunoloogilise mälu.

Organism

Hiir

Tissue

Colon

Disease

Adenokartsinoom

Synonyms

CT26-kloon 25

Omadused

Breed/Subspecies

BALB/c

Age

Täpsustamata

Gender

Naised

CT26.CL25 rakud | 305353

Morphology Fibroblastide

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation CT26.CL25 (Cytioni katalooginumber 305353)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_7255

GMO Status GMO-S1: See hiire käärsõole kartsinoomi rakuliini (CT26.CL25) sisaldab lacZ ja Tn5-neo kodeerivat retroviirusvektorit, mis võimaldab β -galaktosidaasi ekspressiooni ja neomütsiiniresistentsust. Konstruktsioon on stabiilselt integreeritud CT26 rakkudesse. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression H-2d

Tumorigenic Jah, BALB/c hiirtel

Products Ekspresseeritud geenid: beeta-galaktosidaas (beeta-gal), H-2D

Mutational profile Geeni kustutamine: Cdkn2a, homosügootne; Mutatsioon: Kras, p.Gly12Asp (c.35G>A), homosügootne

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS, 1% NEAA, 0,4 mg/ml G418, lisada 2,5 g/l glükoosi ja 10 mM HEPESi

Dissociation Reagent Accutase

CT26.CL25 rakud | 305353**Subculturing**

Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspendeerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

CT26.CL25 rakud | 305353

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.