

CCK-81 rakud | 305757

Üldine teave

Description

Rakuliin CCK-81 on esmasest kasvajast saadud inimese kolorektaalse adenokartsinoomi mudel. Seda kasutatakse laialdaselt vähibioloogia uuringutes, mis keskenduvad seedetrakti pahaloomulistele kasvajatele, ning selle puhul on iseloomustatud mitmesuguseid geneetilisi muutusi ja ravimireaktsiooni profiile. Vähisuppressorgeenide funktsionaalse sõelumise kohaselt ekspresseerib CCK-81 mutatsiooni **TP53**, mida on kinnitanud pärmi baasil tehtud funktsionaalsed analüüsid, kus vaid umbes 6% kolooniatest näitasid transkriptsiooniliselt aktiivset p53 fenotüüpi, mis viitab funktsiooni kaotuse mutatsioonile. See mutatsiooni staatus on kooskõlas selle tuumorigeense päritoluga ja aitab kaasa selle asjakohasusele mudelina p53-defitsiitsete kolorektaalvähkide uurimisel.

CCK-81 on lisatud ka peamistesse vähirakkude liinide kogumikesse, nagu Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE), kus seda on profiilitud mitmete oomikakihtide lõikes, sealhulgas geeniekspressioon, koopiarvu variatsioon, mutatsioonistaatus ja ravimite tundlikkus. Selle lisamine nendesse andmekogumitesse võimaldab integreeritud analüüsi signaaliteede sõltuvustest ja terapeutilistest haavatavustest kolorektaalse vähi alatüüpide lõikes. Näiteks on proteogeenomiline profiilide koostamine toonud esile, et kolorektaalse vähi rakuliinid, sealhulgas CCK-81, näitavad sageli signaaliteede, nagu Wnt/ β -kateniini ja MAPK, regulatsiooni häireid, mis teeb need sobivaks täppisonkoloogia uuringuteks, mis on suunatud nendele telgedele.

Organism

Inimene

Tissue

Metastaatiline

Disease

Jämesoole adenokartsinoom

Metastatic site

Lümfisõlm

Synonyms

CCK81

Omadused

Age

62 aastat

Gender

Naised

Ethnicity

Jaapani

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

CCK-81 rakud | 305757

Citation CCK-81 (Cytioni katalooginumber 305757)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2873

Biomolekulaarsed andmed

Mutational profile Mutatsioon: FBXW7, lihtne, p.Arg465Cys (c.1393C>T), heterosügootne (DepMap=ACH-000963). Mutatsioon, PIK3CA, lihtne, p.Cys420Arg (c.1258T>C), heterosügootne (DepMap=ACH-000963). Mutatsioon, TP53, lihtne, p.Pro278His (c.833C>A), heterosügootne

Töötlemine

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)**Supplements** Lisage kasvukeskkonnale 10% FBS-i, 1% NEAA-d ja 1 mM naatriumpüruvaati**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 45 tundi**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 resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density** 1 kuni 3×10^4 rakku/cm²**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**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.

CCK-81 rakud | 305757**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vialal 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 vialli 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 vialli 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. Adhereeruvate 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.

**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 vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

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

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

CCK-81 rakud | 305757

Sterility

Mükoplasmaakontaminatsioon 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.