

CT26.CL25-solut | 305353

Yleisiä tietoja

Description

CT26.CL25-solulinja on hiiren paksusuolen karsinoomamalli, joka on johdettu CT26-solulinjasta, joka on kemiallisesti indusoitu, erilaistumaton paksusuolen karsinooma, joka on peräisin BALB/c-hiiristä. CT26.CL25 on geneettisesti muunnettu ilmentämään β -galaktosidaasi (β -gal) -proteiinia, mikä tekee siitä erinomaisen mallin kasvainten immunologian ja immunoterapian tutkimiseen erityisesti kasvaimiin liittyvien antigeenien (TAA) yhteydessä. Tämä modifikaatio mahdollistaa spesifiset immunologiset tutkimukset, jotka kohdistuvat β -galiin uusantigeeninä, mikä helpottaa kasvaimen immuunipuolustuksen välttämismekanismien tutkimusta ja syöpärokotteiden tai adoptiivisten soluhoidojen kehittämistä.

CT26.CL25:tä on käytetty prekliinisissä malleissa immuunivasteiden ja immunoterapioiden tehokkuuden tutkimiseen, kuten kasvaimen liittyvillä antigeeneillä kuormitettujen dendriittisten solujen (DC) käyttöön. Tutkimukset ovat osoittaneet, että immunisointistrategiat, joissa käytetään DC-soluja, jotka on pulssitettu retrovirusantigeeneistä, kuten gp70:stä, peräisin olevilla peptideillä, voivat synnyttää voimakkaita kasvaimen vastaisia immuunivasteita. Kokeellisissa malleissa havaittiin gp70:lle spesifisten CD8⁺-sytotoksisten T-lymfosyyttien (CTL:t) aktivoitumista, mikä osoittaa solulinjan käyttökelpoisuuden immunoterapeuttisten lähestymistapojen testaamisessa. Immunisoinnissa tällaisilla peptidillä ladatuilla DC-soluilla on kuitenkin ilmennyt rajoituksia erityisesti vakiintuneiden etäpesäkkeiden hoidossa, mikä korostaa haasteita, jotka liittyvät ennaltaehkäisevien immuunivasteiden muuntamiseen terapeuttiseksi tehoksi.

Lisäksi CT26.CL25:tä käytetään usein tutkimuksissa yhdistettyjen immunoterapian lähestymistapojen, kuten immuunijärjestelmän tarkistuspisteiden estäjien tai syöpärokotteiden, tehokkuuden testaamiseen. Tutkimuksissa on esimerkiksi arvioitu metronisen kemoterapian vaikutusta yhdistettynä immuunitarkistuspisteiden estäjiin, jolloin immunogeenisen solukuoleman (ICD) induktio CT26.CL25:ssä on ollut ratkaisevan tärkeää kasvaimen vastaisen immuunivasteen tehostamisessa. Nämä tutkimukset ovat osoittaneet, että immuunitarkistuspisteiden kohdentaminen voi synergiaa solunsalpaajahoidon kanssa lisätä kasvaimen hylkimisprosenttia ja luoda pitkäaikaisen immunologisen muistin.

Organism

Hiiri

Tissue

Paksusuoli

Disease

Adenokarsinooma

Synonyms

CT26-klooni 25

Ominaisuudet

Breed/Subspecies

BALB/c

Age

Määrittelemätön

Gender

Nainen

CT26.CL25-solut | 305353

Morphology	Fibroblastit
-------------------	--------------

Growth properties	Tarttuva
--------------------------	----------

Säätelytiedot

Citation	CT26.CL25 (Cytionin luettelonumero 305353)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_7255
-----------------------------	-----------

GMO Status	GMO-S1: Tämä hiiren paksusuolen karsinooman solulinja (CT26.CL25) sisältää lacZ:tä ja Tn5-neoa koodaavan retrovirusvektorin, joka mahdollistaa β -galaktosidaasi-ekspression ja neomysiiniresistenssin. Konstruktio on integroitu vakaasti CT26-soluihin. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.
-------------------	--

Biomolekyyli tiedot

Antigen expression	H-2d
---------------------------	------

Tumorigenic	Kyllä, BALB/c-hiirillä
--------------------	------------------------

Products	Ilmaistut geenit: beta-galaktosidaasi (beta-gal), H-2D
-----------------	--

Mutational profile	Geenin poisto: Cdkn2a, homotsygoottinen; Mutaatio: Kras, p.Gly12Asp (c.35G>A), homotsygoottinen
---------------------------	---

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä, 1 % NEAA:lla, 0,4 mg/ml G418:lla, lisätään 2,5 g/l glukoosia ja 10 mM HEPES:ää
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

CT26.CL25-solut | 305353

Subculturing

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektioipullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektioipullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektioipullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

CT26.CL25-solut | 305353

Flask Coating Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.