

CCK-81-solut | 305757

Yleisiä tietoja

Description

CCK-81-solulinja on primaarista kasvaimesta johdettu ihmisen paksusuolen adenokarsinooman malli. Sitä käytetään yleisesti ruoansulatuskanavan pahanlaatuisiin kasvaimiin keskittyvissä syöpäbiologian tutkimuksissa, ja sen geneettiset muutokset sekä lääkevasteprofiilit on kuvattu. Kasvainsuppressorigeenien toiminnallisen seulonnan mukaan CCK-81 ilmentää mutanttia **TP53**, mikä on vahvistettu hiivapohjaisilla toiminnallisilla määrittelyillä. Vain noin 6 % pesäkkeistä osoittaa transkriptionaalisesti aktiivista p53-fenotyyppiä, mikä viittaa funktionaaliseen mutaatioon. Tämä mutaatiotila on yhdenmukainen sen tuumorigeenisen alkuperän kanssa ja lisää sen merkitystä mallina p53-puutteisten kolorektaalisyöpien tutkimuksessa.

CCK-81 on myös sisällytetty tärkeimpiin syöpäsolulinjakokoelmiin, kuten Cancer Cell Line Encyclopediaan (CCLE), jossa se on profiloitu useiden omiikkatasojen kautta, mukaan lukien geeniekspressio, kopioiden lukumäärän vaihtelu, mutaatiotila ja lääkeherkkyys. Sen sisällyttäminen näihin tietokantoihin mahdollistaa integroidut analyysit reittiriippuvuuksista ja terapeuttisista haavoittuvuuksista paksusuolisyövän alatyypin välillä. Esimerkiksi proteogenominen profilointi on tuonut esiin, että kolorektaalisyövän solulinjoissa, mukaan lukien CCK-81, esiintyy usein säätelyhäiriöitä signaalireiteissä, kuten Wnt/ β -kateniini ja MAPK, mikä tekee niistä sopivia näihin akseleihin kohdistuviin täsmäonkologisiin tutkimuksiin.

Organism

Ihminen

Tissue

Metastaattinen

Disease

Paksusuolen adenokarsinooma

Metastatic site

Imusolmuke

Synonyms

CCK81

Ominaisuudet

Age

62 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Japanilainen

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

CCK-81-solut | 305757

Citation	CCK-81 (Cytion-tuotenumero 305757)
-----------------	------------------------------------

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

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_2873
-----------------------------	-----------

Biomolekyylitiedot

Mutational profile	Mutaatio: FBXW7, yksinkertainen, p.Arg465Cys (c.1393C>T), heterotsygootti (DepMap=ACH-000963). Mutaatio, PIK3CA, yksinkertainen, p.Cys420Arg (c.1258T>C), heterotsygoottinen (DepMap=ACH-000963). Mutaatio, TP53, yksinkertainen, p.Pro278His (c.833C>A), heterotsygoottinen
---------------------------	--

Käsittely

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
-----------------------	--

Supplements	Lisää elatusaineeseen 10 % FBS:ää, 1 % NEAA:ta ja 1 mM natriumpyruvaattia
--------------------	---

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

Doubling time	45 tuntia
----------------------	-----------

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.
---------------------	---

Seeding density	1-3 x 10 ⁴ solua/cm ²
------------------------	---

Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
----------------------	---------------------

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.
----------------------	---

CCK-81-solut | 305757

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo 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 injektiopullo 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 injektiopullo 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 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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

CCK-81-solut | 305757

Sterility

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

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