Product sheet

CCK-81 sejtek | 305757

Általános információk

Description	A CCK-81 sejtvonal egy elsődleges daganatból származó humán vastagbél-adenokarcinóma modell. Gyakran alkalmazzák a gyomor-bélrendszeri rosszindulatú daganatokra összpontosító rákbiológiai kutatásokban, és számos genetikai eltérést, valamint gyógyszerreakciós profilt jellemeztek benne. A tumor szuppresszor gének funkcionális szűrése szerint a CCK-81 mutáns **TP53**-at expresszál, amit élesztő alapú funkcionális vizsgálatok is megerősítettek: a kolóniák csupán körülbelül 6%-a mutat transzkripcionálisan aktív p53 fenotípust, ami funkcióvesztéses mutációra utal. Ez a mutációs státusz összhangban áll a vonal tumorigenikus eredetével, és hozzájárul ahhoz, hogy a p53-hiányos kolorektális rákok tanulmányozásának modelljeként releváns legyen. A CCK-81-et felvették a főbb ráksejtvonal-kompendiumokba is, például a Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE) adatbázisba, ahol több omikális rétegben is profilozták, beleértve a génexpressziót, a kópiaszám-variációt, a mutációs státuszt és a gyógyszerérzékenységet. Ezen adatkészletekbe való felvétele lehetővé teszi a jelátviteli útvonalaktól való függőségek és a terápiás sebezhetőségek integrált elemzését a kolorektális rák altípusai között. Például a proteogenomikai profilalkotás rávilágított arra, hogy a vastagbélrákos sejtvonalak, beleértve a CCK-81-et is, gyakran mutatnak szabályozatlan jelátviteli útvonalakat, mint például a Wnt/β-katenin és a MAPK, ami alkalmassá teszi őket az ezeket a tengelyeket célzó precíziós onkológiai tanulmányokhoz.
Organism	Emberi
Tissue	Metasztatikus
Disease	Vastagbél adenokarcinóma
Metastatic site	Nyirokcsomó
Synonyms	CCK81

Jellemzők

Age	62 év
Gender	Női
Ethnicity	Japán
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	CCK-81 (Cytion katalógusszám: 305757)

Product sheet

CCK-81 sejtek | 305757

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2873

Biomolekuláris adatok

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

A kezelése

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-sel, 1% NEAA-val és 1 mM nátrium-piruváttal
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	45 óra
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	1–3 x 10^4 sejt/cm^2
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

CCK-81 sejtek | 305757

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

CCK-81 sejtek | 305757

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.