

Cellule CT26.CL25 | 305353

Informazioni generali

Description

La linea cellulare CT26.CL25 è un modello di carcinoma del colon murino derivato dalla linea cellulare parentale CT26, che è un carcinoma del colon indifferenziato indotto chimicamente e proveniente da topi BALB/c. CT26.CL25 è stato geneticamente modificato per esprimere la proteina β -galattosidasi (β -gal), che lo rende un modello eccellente per lo studio dell'immunologia e dell'immunoterapia dei tumori, in particolare nel contesto degli antigeni associati ai tumori (TAA). Questa modifica consente studi immunologici specifici mirati alla β -gal come neoantigene, facilitando la ricerca sui meccanismi di evasione immunitaria dei tumori e lo sviluppo di vaccini antitumorali o terapie cellulari adottive.

CT26.CL25 è stato impiegato in modelli preclinici per studiare le risposte immunitarie e l'efficacia delle immunoterapie, come l'uso di cellule dendritiche (DC) caricate con antigeni associati al tumore. Gli studi hanno dimostrato che le strategie di immunizzazione che utilizzano DC pulsate con peptidi derivati da antigeni retrovirali, come la gp70, possono suscitare robuste risposte immunitarie anti-tumorali. In modelli sperimentali, è stata osservata l'attivazione di linfociti T citotossici (CTL) CD8+ specifici per gp70, dimostrando l'utilità della linea cellulare per testare approcci immunoterapeutici. Tuttavia, l'immunizzazione con tali DC caricate con peptidi ha mostrato dei limiti, in particolare nel trattamento di metastasi consolidate, evidenziando le sfide nel tradurre le risposte immunitarie profilattiche in efficacia terapeutica.

Inoltre, il CT26.CL25 è spesso utilizzato nella ricerca per testare l'efficacia di approcci immunoterapici combinati, come l'uso di inibitori del checkpoint immunitario o di vaccini antitumorali. Ad esempio, alcuni studi hanno valutato l'impatto della chemioterapia metronomica combinata con gli inibitori del checkpoint immunitario, dove l'induzione della morte cellulare immunogenica (ICD) in CT26.CL25 si è rivelata fondamentale per potenziare la risposta immunitaria antitumorale. Queste indagini hanno dimostrato che il bersaglio dei checkpoint immunitari può sinergizzare con la chemioterapia per aumentare i tassi di rigetto del tumore e stabilire una memoria immunologica a lungo termine.

Organism Mouse

Tissue Colon

Disease Adenocarcinoma

Synonyms CT26-clone 25

Caratteristiche

Breed/Subspecies BALB/c

Age Non specificato

Gender Donna

Morphology Fibroblasti

Cellule CT26.CL25 | 305353

Growth properties	Aderente
--------------------------	----------

Dati normativi

Citation	CT26.CL25 (numero di catalogo Cytion 305353)
-----------------	--

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

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

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

GMO Status	GMO-S1: Questa linea cellulare di carcinoma del colon murino (CT26.CL25) contiene un vettore retrovirale che codifica lacZ e Tn5-neo, consentendo l'espressione di β -galattosidasi e la resistenza alla neomicina. Il costrutto è integrato stabilmente in cellule CT26. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire altrove.
-------------------	---

Dati biomolecolari

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

Tumorigenic	Sì, in topi BALB/c
--------------------	--------------------

Products	Geni espressi: beta galattosidasi (beta-gal), H-2D
-----------------	--

Mutational profile	Delezione genica: Cdkn2a, omozigote; Mutazione: Kras, p.Gly12Asp (c.35G>A), omozigote
---------------------------	---

Manipolazione

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Integrare il terreno con 10% FBS, 1% NEAA, 0,4 mg/mL G418, aggiungere 2,5 g/L di glucosio e 10 mM di HEPES
--------------------	--

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

Cellule CT26.CL25 | 305353

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio Si consiglia un rapporto da 1:4 a 1:6

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Cellule CT26.CL25 | 305353

Flask Coating

Per un attacco e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.