

CCK-81 ląstelės | 305757

Bendra informacija

Description

CCK-81 ląstelių linija yra žmogaus storosios žarnos adenokarcinomos modelis, gautas iš pirminio naviko. Ji dažnai naudojama vėžio biologijos tyrimuose, kuriuose daugiausia dėmesio skiriama virškinimo trakto piktybiniam navikams, ir yra ištirta dėl įvairių genetinių pakitimų bei reakcijos į vaistus profilio. Remiantis naviko slopinančių genų funkcinio skринingu, CCK-81 ekspresuoja mutaciją ****TP53****, kaip patvirtinta mielių pagrindu atliktais funkciniais tyrimais, kur tik apie 6 % kolonijų rodo transkripciškai aktyvų p53 fenotipą, o tai rodo funkcijos praradimo mutaciją. Šis mutacijos statusas atitinka jos navikogeninę kilmę ir prisideda prie jos aktualumo kaip modelio p53 deficito storosios žarnos vėžio tyrimams.

CCK-81 taip pat buvo įtraukta į pagrindinius vėžio ląstelių linijų kompendiumus, pvz., „Cancer Cell Line Encyclopedia“ (CCLE), kur ji buvo aprašyta daugelyje omikos sluoksnių, įskaitant genų ekspresiją, kopijų skaičiaus variacijas, mutacijų statusą ir jautrumą vaistams. Jos įtraukimas į šiuos duomenų rinkinius leidžia atlikti integruotas analizę apie signalinių kelių priklausomybę ir terapinius pažeidžiamumus tarp kolorektalinio vėžio potipių. Pavyzdžiui, proteogenominis profiliavimas parodė, kad storosios žarnos vėžio ląstelių linijos, įskaitant CCK-81, dažnai pasižymi sutrikusiais signalizacijos keliais, tokiais kaip Wnt/ β -kateninas ir MAPK, todėl jos tinka tikslinėms onkologijos tyrimams, nukreiptiems į šias ašis.

Organism Žmogus**Tissue** Metastazių**Disease** Storosios žarnos adenokarcinoma**Metastatic site** Limfmazgis**Synonyms** CCK81

Charakteristikos

Age 62 metai**Gender** Moteris**Ethnicity** Japonų**Growth properties** Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation CCK-81 (Cytion katalogo numeris 305757)

CCK-81 ląstelės | 305757

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2873

Biomolekuliniai duomenys

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

Tvarkymas

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)
----------------	--

Supplements	terpę įpilkite 10 % FBS, 1 % NEAA ir 1 mM natrio piruvato
-------------	---

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

Doubling time	45 valandos
---------------	-------------

Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
--------------	---

Seeding density	1–3 x 10 ⁴ ląstelės/cm ²
-----------------	--

Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
---------------	------------------------

Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
---------------	---

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

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

CCK-81 ląstelės | 305757

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.