

CT26.CL25 šūnas | 305353

Vispārīga informācija

Description

CT26.CL25 šūnu līnija ir peļu resnās zarnas karcinomas modelis, kas iegūts no vecāku CT26 šūnu līnijas, kas ir ķīmiski inducēta, nediferencēta resnās zarnas karcinoma, kas iegūta no BALB/c pelēm. CT26.CL25 ir ģenētiski modificēta, lai ekspresētu β -galaktozidāzes (β -gal) proteīnu, padarot to par lielisku modeli audzēju imunoloģijas un imūnterapijas izpētei, jo īpaši saistībā ar audzēju asociētajiem antigēniem (TAA). Šī modifikācija ļauj veikt specifiskus imunoloģiskus pētījumus, kas vērsti uz β -gal kā neoantigēnu, atvieglojot pētījumus par audzēja imūnās izvairīšanās mehānismiem un vēža vakcīnu vai adaptīvās šūnu terapijas izstrādi.

CT26.CL25 ir izmantots pirmsklīniskajos modeļos, lai pētītu imūnās atbildes reakcijas un imūnterapijas efektivitāti, piemēram, izmantojot dendrītiskās šūnas (DC), kas ir apgādātas ar audzēja saistītajiem antigēniem. Pētījumi liecina, ka imunizācijas stratēģijas, kurās izmanto DC, kas pulsētas ar peptīdiem, kuri iegūti no retrovīrusu antigēniem, piemēram, gp70, var izraisīt spēcīgas pretvēža imūnās atbildes reakcijas. Eksperimentālos modeļos tika novērota gp70 specifisku CD8+ citotoksisko T limfocītu (CTL) aktivācija, kas liecina par šūnu līnijas lietderību imunoterapeitisko pieeju testēšanā. Tomēr imunizācija ar šādām ar peptīdiem bagātinātām DC ir izrādījusies ierobežota, jo īpaši konstatēto metastāžu ārstēšanā, uzsverot problēmas, kas saistītas ar profilaktisko imūnreakciju pārvēršanu terapeitiskajā efektivitātē.

Turklāt CT26.CL25 bieži izmanto pētījumos, lai pārbaudītu kombinētu imūnterapijas pieeju efektivitāti, piemēram, izmantojot imūnkontroles punktu inhibitorus vai vēža vakcīnas. Piemēram, pētījumos ir novērtēta metronomiskās ķīmijterapijas ietekme kombinācijā ar imūnkontroles punktu inhibitoriem, kur imūnās šūnu nāves (ICD) indukcija CT26.CL25 ir bijusi izšķiroša pretvēža imūnās atbildes reakcijas pastiprināšanai. Šie pētījumi ir pierādījuši, ka mērķtiecīga imūno kontrolpunktu iedarbība var sinerģēt ar ķīmijterapiju, lai palielinātu audzēja noraidīšanas rādītājus un izveidotu ilgtermiņa imunoloģisko atmiņu.

Organism

Peļe

Tissue

Resnās zarnas

Disease

Adenokarcinoma

Synonyms

CT26-klons 25

Raksturojums

Breed/Subspecies

BALB/c

Age

Nav norādīts

Gender

Sievietes

Morphology

Fibroblasti

CT26.CL25 šūnas | 305353

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati**Citation**

CT26.CL25 (Cytion kataloga numurs 305353)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_7255

GMO Status

GMO-S1: Šī mēdijas resnās zarnas karcinomas šūnu līnija (CT26.CL25) satur retrovīrusu vektoru, kas kodē lacZ un Tn5-neo, nodrošinot β-galaktozidāzes ekspresiju un rezistenci pret neomicīnu. Konstrukts ir stabili integrēts CT26 šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati**Antigen expression**

H-2d

Tumorigenic

Jā, BALB/c pelēm

Products

Izteiktie gēni: beta galaktozidāze (beta-gal), H-2D

Mutational profile

Gēnu dzēšana: Cdkn2a, homozigotiska; Mutācija: Kras, p.Gly12Asp (c.35G>A), homozigotiska

Darbs ar**Culture Medium**RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements**

Papildiniet barotni ar 10% FBS, 1% NEAA, 0,4 mg/ml G418, pievienojiet 2,5 g/l glikozes un 10 mM HEPES

Dissociation Reagent

Accutase

CT26.CL25 šūnas | 305353**Subculturing**

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsāt vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

CT26.CL25 šūnas | 305353

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.