

CCK-81 šūnas | 305757

Vispārīga informācija

Description

CCK-81 šūnu līnija ir cilvēka kolorektālās adenokarcinomas modelis, kas iegūts no primārā audzēja. To plaši izmanto vēža bioloģijas pētījumos, kas veltīti gremošanas trakta ļaundabīgajiem audzējiem, un tā ir raksturota attiecībā uz dažādām ģenētiskām izmaiņām un zāļu iedarbības profiliem. Saskaņā ar audzēja supresoru gēnu funkcionālo skrīningu, CCK-81 ekspresē mutāciju ****TP53****, ko apstiprina rauga bāzes funkcionālie testi, kur tikai apmēram 6 % koloniju parāda transkripcijas aktīvo p53 fenotipu, norādot uz funkcijas zuduma mutāciju. Šīs mutācijas statuss atbilst tās tumorogēnajai izcelsmei un veicina tās nozīmīgumu kā modeļa p53 deficīta kolorektālo vēžu pētīšanai.

CCK-81 ir iekļauts arī galvenajos vēža šūnu līniju kompendijos, piemēram, Vēža šūnu līniju enciklopēdijā (CCLE), kur tā profils ir izveidots vairākās omikas slāņos, tostarp gēnu ekspresija, kopiju skaita variācijas, mutāciju statuss un zāļu jutība. Tās iekļaušana šajos datu kopumos ļauj veikt integrētu analīzi par ceļu atkarībām un terapeitiskajām vajājam vietām visos kolorektālā vēža apakštipos. Piemēram, proteogenomiskā profilēšana ir parādījusi, ka kolorektālā vēža šūnu līnijas, tostarp CCK-81, bieži izrāda regulācijas traucējumus signālceļos, piemēram, Wnt/ β -katenīnā un MAPK, padarot tās piemērotas precīzās onkoloģijas pētījumiem, kas vērsti uz šīm asīm.

Organism

Cilvēks

Tissue

Metastātisks

Disease

Resnās zarnas adenokarcinoma

Metastatic site

Limfmezgls

Synonyms

CCK81

Raksturojums

Age

62 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Japāņu

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

CCK-81 (Cytion kataloga numurs 305757)

CCK-81 šūnas | 305757

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2873

Biomolekulārie dati

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

Darbs ar

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)

Supplements Papildiniet barotni ar 10 % FBS, 1 % NEAA un 1 mM nātrija piruvātu

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 45 stundas

Subculturing Noņem 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.

Seeding density 1 līdz 3×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

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.

CCK-81 šūnas | 305757**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.

**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

CCK-81 šūnas | 305757

Sterility

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

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