

CCK-81-cellen | 305757

Algemene informatie

Description

De CCK-81-cel lijn is een model van humaan colorectaal adenocarcinoom dat is afgeleid van een primaire tumor. Deze cel lijn wordt veelvuldig gebruikt in kankerbiologisch onderzoek naar maligniteiten van het maag-darmstelsel en is gekarakteriseerd op basis van diverse genetische veranderingen en profielen van de respons op geneesmiddelen. Volgens functionele screening van tumorsuppressorgenen brengt CCK-81 het gemuteerde ****TP53**** tot expressie, zoals bevestigd door op gist gebaseerde functionele assays, waarbij slechts ongeveer 6% van de kolonies het transcriptioneel actieve p53-fenotype vertoont, wat wijst op een functieverliesmutatie. Deze mutatiestatus komt overeen met de tumorogene oorsprong ervan en draagt bij aan de relevantie ervan als model voor het bestuderen van p53-deficiënte colorectale kankers.

CCK-81 is ook opgenomen in belangrijke compendia van kankercellijnen, zoals de Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE), waar het is geprofileerd over meerdere omics-lagen, waaronder genexpressie, variatie in kopieaantal, mutatiestatus en gevoeligheid voor geneesmiddelen. De opname in deze datasets maakt geïntegreerde analyses mogelijk van afhankelijkheid van signaalroutes en therapeutische kwetsbaarheden bij verschillende subtypes van colorectale kanker. Zo heeft proteogenomische profilering bijvoorbeeld aangetoond dat colorectale kankercellijnen, waaronder CCK-81, vaak ontregelde signaalroutes vertonen, zoals Wnt/ β -catenine en MAPK, waardoor ze geschikt zijn voor precisie-oncologiestudies die zich op deze assen richten.

Organism

Mens

Tissue

Uitgezaaid

Disease

Colonadenocarcinoom

Metastatic site

Lymfeklier

Synonyms

CCK81

Kenmerken

Age

62 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Japans

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

CCK-81-cellen | 305757

Citation CCK-81 (Cytion-catalogusnummer 305757)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2873

Biomoleculaire gegevens

Mutational profile Mutatie: FBXW7, Enkelvoudig, p.Arg465Cys (c.1393C>T), heterozygoot (DepMap=ACH-000963). Mutatie, PIK3CA, eenvoudig, p.Cys420Arg (c.1258T>C), heterozygoot (DepMap=ACH-000963). Mutatie, TP53, eenvoudig, p.Pro278His (c.833C>A), heterozygoot

Omgaan met

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)**Supplements** Voeg aan het medium 10% FBS, 1% NEAA en 1 mM natriumpyruvaat toe**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 45 uur**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugerende bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Seeding density** 1 tot 3×10^4 cellen/cm²**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

CCK-81-cellen | 305757

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150°C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37°C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78°C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196°C . Opslag bij -80°C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

CCK-81-cellen | 305757

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.