

## Komórki CT26.CL25 | 305353

## Informacje ogólne

## Description

Linia komórkowa CT26.CL25 jest mysim modelem raka okrężnicy wywodzącym się z macierzystej linii komórkowej CT26, która jest chemicznie indukowanym, niezróżnicowanym rakiem okrężnicy pochodzącym od myszy BALB/c. CT26.CL25 został genetycznie zmodyfikowany w celu ekspresji białka  $\beta$ -galaktozydazy ( $\beta$ -gal), co czyni go doskonałym modelem do badania immunologii nowotworów i immunoterapii, szczególnie w kontekście antygenów związanych z nowotworem (TAA). Modyfikacja ta pozwala na specyficzne badania immunologiczne ukierunkowane na  $\beta$ -gal jako neoantygen, ułatwiając badania nad mechanizmami unikania odporności guza i rozwojem szczepionek przeciwnowotworowych lub adopcyjnych terapii komórkowych.

CT26.CL25 został wykorzystany w modelach przedklinicznych do badania odpowiedzi immunologicznej i skuteczności immunoterapii, takich jak stosowanie komórek dendrytycznych (DC) obciążonych antygenami związanymi z nowotworem. Badania wykazały, że strategie immunizacji wykorzystujące DCs pulsowane peptydami pochodzącymi z antygenów retrowirusowych, takich jak gp70, mogą wywoływać silne przeciwnowotworowe odpowiedzi immunologiczne. W modelach eksperymentalnych zaobserwowano aktywację cytotoksycznych limfocytów T CD8+ (CTL) specyficznych dla gp70, co wskazuje na użyteczność linii komórkowej w testowaniu podejść immunoterapeutycznych. Jednak immunizacja takimi DC obciążonymi peptydami wykazała ograniczenia, szczególnie w leczeniu ustalonych przerzutów, podkreślając wyzwania związane z przełożeniem profilaktycznych odpowiedzi immunologicznych na skuteczność terapeutyczną.

Ponadto, CT26.CL25 jest często wykorzystywany w badaniach do testowania skuteczności metod immunoterapii skojarzonej, takich jak stosowanie inhibitorów immunologicznych punktów kontrolnych lub szczepionek przeciwnowotworowych. Na przykład, w badaniach oceniano wpływ chemioterapii metronomicznej w połączeniu z inhibitorami immunologicznych punktów kontrolnych, gdzie indukcja immunogennej śmierci komórki (ICD) w CT26.CL25 miała kluczowe znaczenie dla wzmocnienia przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej. Badania te wykazały, że celowanie w immunologiczne punkty kontrolne może współdziałać z chemioterapią w celu zwiększenia odsetka odrzucenia guza i ustanowienia długoterminowej pamięci immunologicznej.

<b>Organism</b>	Mysz
<b>Tissue</b>	Colon
<b>Disease</b>	Gruzołakorak
<b>Synonyms</b>	CT26-klon 25

## Charakterystyka

<b>Breed/Subspecies</b>	BALB/c
<b>Age</b>	Nieokreślony
<b>Gender</b>	Kobieta

## Komórki CT26.CL25 | 305353

**Morphology** Fibroblast

**Growth properties** Adherent

## Dane regulacyjne

**Citation** CT26.CL25 (numer katalogowy Cytion 305353)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**CellosaurusAccession** CVCL\_7255

**GMO Status** GMO-S1: Ta linia komórek mysiego raka okrężnicy (CT26.CL25) zawiera wektor retrowirusowy kodujący lacZ i Tn5-neo, umożliwiającą ekspresję  $\beta$ -galaktozydazy i oporność na neomycynę. Konstrukt jest stabilnie zintegrowany z komórkami CT26. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

## Dane biomolekularne

**Antigen expression** H-2d

**Tumorigenic** Tak, u myszy BALB/c

**Products** Wyrażane geny: beta-galaktozydaza (beta-gal), H-2D

**Mutational profile** Delecja genu: Cdkn2a, homozygotyczny; Mutacja: Kras, p.Gly12Asp (c.35G>A), homozygotyczny

## Obsługa

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820700a)

**Supplements** Uzupelnic pożywkę 10% FBS, 1% NEAA, 0,4 mg/ml G418, dodać 2,5 g/l glukozy i 10 mM HEPES

**Dissociation Reagent** Accutase

**Komórki CT26.CL25 | 305353**

**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

**Split ratio** Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:6

**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otwórz zdezynfekowaną fiolkę i przenieś zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

## Komórki CT26.CL25 | 305353

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5%<sub>CO2</sub>, nawilżona atmosfera.

**Flask Coating** Brak

**Freezing Procedure** Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Shipping Conditions** Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage Conditions** W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

**Sterility** Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.