

Células CCK-81 | 305757**Informações gerais****Description**

A linha celular CCK-81 é um modelo de adenocarcinoma colorretal humano derivado de um tumor primário. É frequentemente utilizada em estudos de biologia do cancro centrados em neoplasias malignas do trato gastrointestinal e foi caracterizada no que diz respeito a várias alterações genéticas e perfis de resposta a fármacos. De acordo com o rastreio funcional de genes supressores de tumores, a CCK-81 expressa o **TP53** mutante, conforme confirmado por ensaios funcionais baseados em leveduras, com apenas cerca de 6% das colónias a apresentarem o fenótipo p53 transcricionalmente ativo, indicando uma mutação com perda de função. Este estado de mutação está em consonância com a sua origem tumorigénica e contribui para a sua relevância como modelo para o estudo de cancros colorretais com deficiência de p53.

A CCK-81 também foi incluída em importantes compêndios de linhas celulares cancerígenas, como a Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE), onde foi caracterizada em várias camadas ómicas, incluindo expressão genética, variação do número de cópias, estado de mutação e sensibilidade aos fármacos. A sua inclusão nestes conjuntos de dados permite análises integradas das dependências das vias e vulnerabilidades terapêuticas em todos os subtipos de cancro colorretal. Por exemplo, o perfil proteogenómico destacou que as linhas celulares de cancro colorretal, incluindo a CCK-81, apresentam frequentemente vias de sinalização desreguladas, tais como Wnt/ β -catenina e MAPK, tornando-as adequadas para estudos de oncologia de precisão que visem estes eixos.

Organism

Humano

Tissue

Metastático

Disease

Adenocarcinoma do cólon

Metastatic site

Nódulo linfático

Synonyms

CCK81

Caraterísticas**Age**

62 anos

Gender

Feminino

Ethnicity

Japonês

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares

Células CCK-81 | 305757**Citation** CCK-81 (número de catálogo da Cytion 305757)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2873**Dados biomoleculares****Mutational profile** Muta  o: FBXW7, simples, p.Arg465Cys (c.1393C>T), heterozigótica (DepMap=ACH-000963). Muta  o, PIK3CA, Simples, p.Cys420Arg (c.1258T>C), Heterozig  tica (DepMap=ACH-000963). Muta  o, TP53, Simples, p.Pro278His (c.833C>A), Heterozig  tica**Manuseamento****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO₃, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)**Supplements** Adicione ao meio 10 % de FBS, 1 % de NEAA e 1 mM de piruvato de sódio**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 45 horas**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lav  -las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar    temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubac  o, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** 1 a 3 x 10⁴ células/cm²**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservac  o, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recupera  o e reduzir o stress induzido pela crio.

Células CCK-81 | 305757

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196°C . O armazenamento a -80°C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Células CCK-81 | 305757

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.