

Celice CCK-81 | 305757

Splošne informacije

Description

Celična linija CCK-81 je model človeškega kolorektalnega adenokarcinoma, pridobljen iz primarnega tumorja. Pogosto se uporablja v raziskavah rakave biologije, ki se osredotočajo na maligne bolezni prebavil, pri čemer so bile pri njej opredeljene različne genetske spremembe in profili odziva na zdravila. Glede na funkcionalno presejanje tumor supresornih genov, CCK-81 izraža mutirani **TP53**, kar so potrdili funkcionalni testi na kvasovkah, pri čemer le okoli 6 % kolonij kaže transkripcijsko aktiven p53 fenotip, kar kaže na mutacijo z izgubo funkcije. Ta mutacijski status je skladen z njegovim tumorigenim izvorom in prispeva k njegovi relevantnosti kot modela za preučevanje kolorektalnih rakov z pomanjkanjem p53.

CCK-81 je bil vključen tudi v glavne kompendije rakavih celičnih linij, kot je Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE), kjer je bil profiliran na več omičnih ravneh, vključno z izražanjem genov, variacijo števila kopij, statusom mutacije in občutljivostjo na zdravila. Njegova vključitev v te podatkovne nize omogoča integrirane analize odvisnosti poti in terapevtskih ranljivosti med podtipi kolorektalnega raka. Na primer, proteogenomsko profiliranje je poudarilo, da celične linije raka debelega črevesa, vključno s CCK-81, pogosto kažejo motene signalne poti, kot sta Wnt/ β -katenin in MAPK, zaradi česar so primerne za študije precizne onkologije, usmerjene v te osi.

Organism

Človek

Tissue

Metastatski

Disease

Adenokarcinom debelega črevesa

Metastatic site

Limfna vozlišča

Synonyms

CCK81

Značilnosti

Age

62 let

Gender

Ženske

Ethnicity

Japonski

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation

CCK-81 (katalogska številka Cytion 305757)

Celice CCK-81 | 305757

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2873

Biomolekularni podatki

Mutational profile Mutacija: FBXW7, enostavna, p.Arg465Cys (c.1393C>T), heterozigotna (DepMap=ACH-000963). Mutacija, PIK3CA, preprosta, p.Cys420Arg (c.1258T>C), heterozigotna (DepMap=ACH-000963). Mutacija, TP53, preprosta, p.Pro278His (c.833C>A), heterozigotna

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)

Supplements Gojilnemu mediju dodajte 10 % FBS, 1 % NEAA in 1 mM natrijevega piruvata

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 45 ur

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 1 do 3×10^4 celic/cm²

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice CCK-81 | 305757

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Celice CCK-81 | 305757

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.