Product sheet

Клетки DLD-1 | 300220

Обща информация

Description	DLD-1 е човешка клетъчна линия на колоректален аденокарцином, получена от дисталното дебело черво на възрастен пациент. Тези клетки са епителни по морфология и първоначално са създадени за изследване на механизмите и патологията на колоректалния рак. Клетките DLD-1 се използват често в онкологичните изследвания, особено в проучвания, насочени към молекулярната биология на рака, генната експресия и ефектите на различни химиотерапевтични агенти. Тази клетъчна линия е известна с хетерозиготната си мутация на KRAS в кодон 13, която е често срещана при колоректалния рак, като я замесва в оцеляването и пролиферацията на раковите клетки. Освен това DLD-1 показва мутации в гена APC, които допринасят за дерегулацията на сигналния път на Wnt, критичен елемент в колоректалната канцерогенеза. Широкото използване на DLD-1 в научните изследвания осигурява ценни познания за поведението на тумора, отговора на лекарствата и генетиката на рака, което го превръща в жизненоважен модел в изследванията на колоректалния рак и разработването на терапии.
Organism	Човек
Tissue	Дебело черво
Disease	Аденокарцином
Synonyms	DLD 1, DLD1, CoCL3

Характеристики

Age	67 години
Gender	Мъжки
Morphology	Подобни на епител
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	DLD-1 (каталожен номер 300220 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

Клетки DLD-1 | 300220

CellosaurusAccession	CVCL_0248

Биомолекулярни данни

Protein expression	Кератин
Tumorigenic	При голи мишки
Viruses	Отрицателна обратна транскриптаза
Products	Карциноембрионален антиген (CEA) 0,5 ng/10 експ6 клетки/10 дни, алкална фосфатаза
Karyotype	2n = 46

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	15 часа
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1 до 2 x 10^{4} клетки/cm^{2}
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично

Клетки DLD-1 | 300220

Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.
Thawing and Culturing Cells	1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането. 2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране. 3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка. 4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол. 5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно. 6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда. 7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките. 8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма

Клетки DLD-1 | 300220

Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.