

DLD-1 rakud | 300220

Üldine teave

Description

DLD-1 on inimese kolorektaalse adenokartsinoomi rakuliin, mis on saadud täiskasvanud patsiendi distaalsest käärsoolest. Need rakud on morfoloogiliselt epiteelilised ja need loodi algselt kolorektaalvähi mehhanismide ja patoloogia uurimiseks. DLD-1 rakke kasutatakse tavaliselt onkoloogilistes uuringutes, eelkõige uuringutes, mis keskenduvad vähi molekulaarbioloogiale, geeniekspressioonile ja erinevate kemoterapeutiliste ainete mõjule.

See rakuliin on tuntud heterosügootse KRAS-mutatsiooni poolest koodonis 13, mis on levinud kolorektaalvähi puhul ja mis on seotud vähirakkude ellujäämise ja proliferatsiooniga. Lisaks on DLD-1-l mutatsioonid APC geenis, mis aitab kaasa Wnt-signaaltee dereguleerimisele, mis on kriitiline element kolorektaalkartsinogeneesis. DLD-1 jõuline kasutamine teadusuuringutes annab väärtuslikke teadmisi kasvaja käitumise, ravivastuse ja vähigeneetika kohta, mistõttu on see oluline mudel kolorektaalvähi uurimisel ja ravimiarenduses.

Organism Inimene

Tissue Colon

Disease Adenokartsinoom

Synonyms DLD 1, DLD1, CoCL3

Omadused

Age 67 aastat

Gender Mees

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation DLD-1 (Cytioni katalooginumber 300220)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0248

DLD-1 rakud | 300220

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression	Keratiin
Tumorigenic	Alasti hiirtel
Viruses	Reverse transkriptaasi negatiivne
Products	Kartsiinoembüooniline antigeen (CEA) 0,5 ng/10 exp6 rakku/10 päeva, leeliseline fosfataas
Karyotype	2n = 46

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	15 tundi
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugege 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	1 kuni 2×10^4 rakku/cm ²
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

DLD-1 rakud | 300220

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

DLD-1 rakud | 300220

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.