Product sheet

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 epiteliaalsed 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 kataloginumber 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 NaHCO3 (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	15 tundi
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt 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 tsentrifuugige 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 x 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 kataloginumber 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 viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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°C, 5% $_{CO2}$, 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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.