

CDNR4 rakud | 400391

Üldine teave

Description

CDNR4 rakuliin koosneb spetsiaalsest alamrühmast, mis pärineb COMMA-D rakuliinist, mis on tuntud hiire rinnanäärme kartsinoomi modelleerimiseks. See klooniline alampopulatsioon on läbinud ulatusliku iseloomustuse, mis on paljastanud mitmeid unikaalseid omadusi ja funktsioone. CDNR4 rakkude üks silmatorkavamaid omadusi on nende sarnasus rinnanäärme tüvirakkudega, mis muudab nad oluliseks ressursiks tüvirakkude bioloogia, kantserogeneesi ja rakkude heterogeensuse aspektide uurimisel populatsioonides. Need rakud arenesid kanamütsiini ja neomütsiini resistentsuse geene (Tn5 geen) kandva transposooni transfektsiooni abil, mis tõi kaasa mitmesuguseid intrigeerivaid omadusi ja võimeid, sealhulgas nende potentsiaali diferentseeruda nii preneoplastilisteks kui ka neoplastilisteks fenotüüpideks.

CDNR4, mis pärineb COMMA-D liinist, mille rakkude heterogeensust uuriti algselt mitmesuguste tehnikate abil, nagu faasikontrastmikroskoopia, immunotsütokeemiline värvimine, DNA-sisalduse analüüs ja onkogeense potentsiaali hindamine, paistab silma kui eriline kloon. Spetsiifiliste transfektsiooni- ja selektsioonimeetodite abil isoleeriti CDNR4-suguseid kлонаalseid alampopulatsioone, millest igaüks säilitas teatava osa algsetel COMMA-D vanemrakkudel täheldatud heterogeensusest. Selline heterogeensuse säilitamine rõhutab nende rakupopulatsioonide keerulist olemust ja suurendab CDNR4 rakkude väärtust rakkude diferentseerumise ja vähi progresseerumise uurimisel.

Organism

Hiir

Tissue

Rind

Disease

Adenokartsinoom

Omadused

Age

1 aasta

Gender

Naised

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

CDNR4 (Cytioni katalooginumber 400391)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CDNR4 rakud | 400391

CellosaurusAccession CVCL_5719

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

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 tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density Soovitav on 2×10^4 rakku/cm².

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

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.

CDNR4 rakud | 400391

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.

CDNR4 rakud | 400391

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.