

CDNR4-solut | 400391

Yleisiä tietoja

Description

CDNR4-solulinja koostuu erikoistuneesta alaryhmästä, joka on peräisin COMMA-D-solulinjasta, joka on tunnettu hiiren rintarauhaskarsinooman mallintamisesta. Tämä klooninen alipopulaatio on karakterisoitu laajasti, mikä on paljastanut useita ainutlaatuisia ominaisuuksia ja toiminnallisuuksia. Yksi CDNR4-solujen silmiinpistävimmistä piirteistä on niiden samankaltaisuus maitorauhasen kantasolujen kanssa, mikä tekee niistä merkittävän resurssin kantasolubiologian, karsinogeneesin ja populaatioiden sisäisen solujen heterogeenisuuden tutkimiseen. Nämä solut kehitettiin transfektoimalla kanamysiini- ja neomysiiniresistenssigeenejä sisältävä transposoni (Tn5-geeni), mikä johti erilaisten kiehtovien ominaisuuksien ja kykyjen kehittymiseen, mukaan lukien niiden kyky erilaistua sekä preneoplastisiin että neoplastisiin fenotyyppeihin.

CDNR4 on peräisin COMMA-D-linjasta, jonka solujen heterogeenisuutta tutkittiin alun perin erilaisilla tekniikoilla, kuten faasikontrastimikroskoopiolla, immunosytokemiallisella värjäyksellä, DNA:n sisällön analyysillä ja onkogeenisen potentiaalin arvioinnilla. Spesifisillä transfektio- ja valintamenetelmillä eristettiin CDNR4:n kaltaisia klonaalisia alipopulaatioita, joista jokainen säilytti jonkin verran alkuperäisissä COMMA-D-alkuperäsoluissa havaittua heterogeenisuutta. Tämä heterogeenisuuden säilyminen korostaa näiden solupopulaatioiden monimutkaista luonnetta ja lisää CDNR4-solujen arvoa solujen erilaistumiseen ja syövän etenemiseen keskittyvässä tutkimuksessa.

Organism

Hiiri

Tissue

Rinta

Disease

Adenokarsinooma

Ominaisuudet

Age

1 vuosi

Gender

Nainen

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

CDNR4 (Cytionin luettelonumero 400391)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CDNR4-solut | 400391

CellosaurusAccession CVCL_5719

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	Suositellaan 2×10^4 solua/cm ²
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm ² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

CDNR4-solut | 400391

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

CDNR4-solut | 400391

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.