Product sheet

DLD-1 ląstelės | 300220

Bendra informacija

Description	DLD-1 yra žmogaus storosios žarnos adenokarcinomos ląstelių linija, gauta iš suaugusio paciento distalinės storosios žarnos dalies. Šios ląstelės yra epitelinės morfologijos ir iš pradžių buvo sukurtos storosios žarnos vėžio mechanizmams ir patologijai tirti. DLD-1 ląstelės dažnai naudojamos onkologiniuose tyrimuose, ypač tyrimuose, kuriuose daugiausia dėmesio skiriama vėžio molekulinei biologijai, genų raiškai ir įvairių chemoterapinių preparatų poveikiui. Ši ląstelių linija yra žinoma dėl heterozigotinės KRAS mutacijos 13 kodone, kuri yra dažnas storosios žarnos vėžio požymis, lemiantis vėžio ląstelių išgyvenamumą ir dauginimąsi. Be to, DLD-1 yra APC geno mutacijų, kurios prisideda prie Wnt signalų kelio, kuris yra labai svarbus kolorektalinės karcinogenezės elementas, dereguliacijos. Moksliniuose tyrimuose plačiai naudojama DLD-1 suteikia vertingų įžvalgų apie naviko elgseną, atsaką į vaistus ir vėžio genetiką, todėl ji yra labai svarbus modelis storosios žarnos vėžio tyrimams ir gydymo metodų kūrimui.
Organism	Žmogus
Tissue	Storosios žarnos
Disease	Adenokarcinoma
Synonyms	DLD 1, DLD1, CoCL3

Charakteristikos

Age	67 metai
Gender	Vyras
Morphology	Į epitelį panašus
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	DLD-1 (Cytion katalogo numeris 300220)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

DLD-1 ląstelės | 300220

CellosaurusAccession	CVCL_0248

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression	Keratinas
Tumorigenic	Su nuogomis pelėmis
Viruses	Atvirkštinė transkriptazė neigiama
Products	Karcinoembrioninis antigenas (CEA) 0,5 ng/10 eksp6 ląstelių/10 dienų, šarminė fosfatazė
Karyotype	2n = 46

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	15 valandų
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	1–2 x 10^4 lą^{stel}ės/cm^2
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

DLD-1 ląstelės | 300220

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.