

CDNR4 šūnas | 400391

Vispārīga informācija

Description

CDNR4 šūnu līnija ir specializēta apakšgrupa, kas iegūta no COMMA-D šūnu līnijas, kura ir pazīstama kā peļu krūts karcinomas modelis. Šī klonu subpopulācija ir plaši raksturota, atklājot virkni unikālu īpašību un funkcionalitātes. Viena no spilgtākajām CDNR4 šūnu iezīmēm ir to līdzība ar piena dziedzeru cilmes šūnām, kas tās padara par nozīmīgu resursu cilmes šūnu bioloģijas, kancerogēnozes un šūnu heterogenitātes populāciju ietvaros izpētei. Šīs šūnas tika izveidotas, transfekējot transpozonu ar kanamicīna un neomicīna rezistences gēniem (Tn5 gēnu), kas izraisīja dažādu intriģējošu īpašību un spēju parādīšanos, tostarp to potenciālu diferencēties gan pirmsneoplastiskos, gan neoplastiskos fenotipos.

CDNR4 izriet no COMMA-D līnijas, kuras šūnu heterogenitāte sākotnēji tika pētīta, izmantojot dažādas metodes, piemēram, fāzu kontrasta mikroskopiju, imunocitokīmisko krāsošanu, DNS satura analīzi un onkogēnā potenciāla novērtēšanu, un CDNR4 izceļas kā īpašs klons. Izmantojot īpašas transfekcijas un selekcijas metodes, tika izolētas tādas klonu subpopulācijas kā CDNR4, no kurām katra saglabāja zināmu heterogenitātes pakāpi, kāda bija vērojama sākotnējās COMMA-D vecāku šūnās. Šī heterogenitātes saglabāšana uzsver šo šūnu populāciju sarežģīto raksturu un palielina CDNR4 šūnu vērtību pētījumos, kas vērsti uz šūnu diferenciaciju un vēža progresēšanu.

Organism

Pele

Tissue

Krūtis

Disease

Adenokarcinoma

Raksturojums

Age

1 gads

Gender

Sievietes

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

CDNR4 (Cytion kataloga numurs 400391)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_5719

CDNR4 šūnas | 400391

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density Ieteicams 2×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

CDNR4 šūnas | 400391**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

CDNR4 šūnas | 400391

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.