

**Células CDNR4 | 400391****Informações gerais****Description**

A linha celular CDNR4 compreende um subconjunto especializado originário da linha celular COMMA-D, conhecida por modelar o carcinoma mamário do rato. Esta subpopulação clonal foi submetida a uma extensa caracterização, revelando uma série de propriedades e funcionalidades únicas. Uma das características mais marcantes das células CDNR4 é a sua semelhança com as células estaminais mamárias, o que as posiciona como um recurso significativo para explorar aspectos da biologia das células estaminais, da carcinogénese e da heterogeneidade celular nas populações. Estas células foram desenvolvidas através da transfecção de um transposão com genes de resistência à canamicina e à neomicina (gene Tn5), o que levou ao aparecimento de várias características e capacidades intrigantes, incluindo o seu potencial para se diferenciarem em fenótipos pré-neoplásicos e neoplásicos.

Originário da linha COMMA-D, que foi inicialmente estudada pela sua heterogeneidade celular utilizando uma variedade de técnicas, tais como microscopia de contraste de fase, coloração imunocitoquímica, análise do conteúdo de ADN e avaliações do potencial oncogénico, o CDNR4 destaca-se como um clone distinto. Através de métodos específicos de transfecção e seleção, foram isoladas subpopulações clonais como a CDNR4, mantendo cada uma delas um certo grau de heterogeneidade observado nas células parentais COMMA-D originais. Esta retenção da heterogeneidade sublinha a natureza complexa destas populações celulares e aumenta o valor das células CDNR4 na investigação centrada na diferenciação celular e na progressão do cancro.

**Organism** Rato**Tissue** Peito**Disease** Adenocarcinoma**Caraterísticas****Age** 1 ano**Gender** Feminino**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** CDNR4 (número de catálogo Cytion 400391)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090

**Células CDNR4 | 400391**

CellosaurusAccession CVCL\_5719

**Dados biomoleculares****Manuseamento**

**Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

**Seeding density** Recomenda-se  $2 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de  $5 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células CDNR4 | 400391

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células CDNR4 | 400391

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.