

Bunky DLD-1 | 300220**Všeobecné informácie****Description**

DLD-1 je ľudská bunková línia kolorektálneho adenokarcinómu odvodená z distálneho tračníka dospelého pacienta. Tieto bunky majú epitelovú morfológiu a pôvodne boli vytvorené na štúdium mechanizmov a patológie kolorektálneho karcinómu. Bunky DLD-1 sa bežne používajú v onkologickom výskume, najmä v štúdiách zameraných na molekulárnu biológiu rakoviny, expresiu génov a účinky rôznych chemoterapeutík.

Táto bunková línia je známa svojou heterozygotnou mutáciou KRAS v kodóne 13, ktorá je bežným znakom kolorektálneho karcinómu a podieľa sa na prežívaní a proliferácii rakovinových buniek. Okrem toho DLD-1 vykazuje mutácie v géne APC, čo prispieva k deregulácii signálnej dráhy Wnt, ktorá je kritickým prvkom v kolorektálnej karcinogéze. Rozsiahle využitie DLD-1 vo výskume poskytuje cenné poznatky o správaní sa nádoru, reakcii na lieky a genetike rakoviny, vďaka čomu je dôležitým modelom vo výskume a vývoji terapie kolorektálneho karcinómu.

Organism Ľudské**Tissue** Colon**Disease** Adenokarcinóm**Synonyms** DLD 1, DLD1, CoCL3**Charakteristika****Age** 67 rokov**Gender** Muži**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** DLD-1 (katalógové číslo Cytion 300220)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606

Bunky DLD-1 | 300220

CellosaurusAccession CVCL_0248

Biomolekulárne údaje

Protein expression	Keratín
Tumorigenic	Na nahých myšiach
Viruses	Reverzná transkriptáza negatívna
Products	Karcinoembryonálny antigén (CEA) 0,5 ng/10 exp6 buniek/10 dní, alkalická fosfatáza
Karyotype	2n = 46

Spracovanie

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (číslo výrobu Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	15 hodín
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Seeding density	1 až 2 x 10 ⁴ buniek/cm ²
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky DLD-1 | 300220

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky DLD-1 | 300220

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.