

Клетките на Daoy | 305053

Обща информация

Description

Клетъчната линия Daoy, създадена през 1985 г. от П.Ф. Якобсен в Кралската болница в Пърт, Западна Австралия, е човешка клетъчна линия, получена от медулобластом - вид мозъчен тумор, който се среща предимно при деца. Тази клетъчна линия произхожда от биопсия на тумор в задната ямка на 4-годишно момче. Медулобластомите обикновено се намират в малкия мозък, област от мозъка, която е от решаващо значение за двигателния контрол и координацията, и са най-често срещаните злокачествени мозъчни тумори при децата.

Клетките Daoy се използват широко като моделна система за изучаване на биологията на медулобластома, включително иницирането на тумора, прогресията и отговора на терапиите. Клетъчната линия е от съществено значение за изследванията на медулобластома, особено за разбирането на молекулярната и генетичната основа на заболяването, както и за тестването на химиотерапевтични средства. Клетките проявяват типични характеристики на злокачествените медулобластомите, включително бърз растеж и способност да образуват тумори при трансплантация в имунокомпрометирани мишки. Изследванията, при които се използва клетъчната линия Daoy, са допринесли за разработването на потенциални нови лечения и терапевтични цели за медулобластома.

Organism Човек

Tissue Мозък, малкия мозък

Disease Медулобластом

Synonyms DAOY, D324 Med, D-324 Med, D324 MED, D-324MED, D324

Характеристики

Age 4 години

Gender Мъжки

Ethnicity Европейски

Morphology Многогълни

Growth properties Придържащи се

Регулаторни данни

Citation Daoy (каталожен номер 305053 на Cytion)

Клетките на Daoy | 305053

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1167

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
-----------------------	---

Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
--------------------	---------------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	34 часа
----------------------	---------

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
---------------------	--

Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
----------------------	----------------------

Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.
----------------------	---

Клетките на Daoy | 305053**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетките на Daoy | 305053

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.