Product sheet

Клетки DAN-G | 300162

Обща информация

Description	Клетъчната линия DAN-G е получена от човешки карцином на панкреаса. Тя се използва широко в изследванията, насочени към рака на панкреаса, особено в проучванията, свързани с туморогенезата, метастазите и резистентността към химиотерапия. Генетичният профил на DAN-G включва мутации в ключови онкогени и тумор супресорни гени, които са характерни за аденокарциномите на панкреаса. Това превръща клетъчната линия в ценен модел за разбиране на молекулярните механизми, лежащи в основата на рака на панкреаса, и за тестване на нови терапевтични стратегии. В допълнение към приложенията ѝ в изследванията на рака, клетъчната линия DAN-G е използвана за изучаване на клетъчните процеси, свързани с прогресията на панкреатичния дуктален аденокарцином, включително регулацията на клетъчния цикъл, апоптозата и пътищата за предаване на сигнали. Клетките проявяват агресивни характеристики на растеж in vitro и имат способността да образуват тумори в имунокомпрометирани мишки, което симулира човешкото заболяване и осигурява in vivo система за оценка на ефикасността на противораковите лекарства. Изследователите използват тази клетъчна линия и за изследване на ролята на туморната микросреда в прогресията на рака на панкреаса и резистентността към терапия.
Organism	Човек
Tissue	Панкреас
Disease	Аденокарцином
Synonyms	Dan-G, DanG, DANG

Характеристики

Age	68 години
Gender	Жена
Morphology	Подобни на епител
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	DAN-G (каталожен номер 300162 на Cytion)
Biosafety level	1

Клетки DAN-G | 300162

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0243

Биомолекулярни данни

Protein expression	P53 отрицателен
Tumorigenic	Да, при голи мишки
Mutational profile	Клетките DAN-G носят хомозиготна мутация на Kras в кодон 12: GGT(Gly) >GTT(Val)

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	33 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 ресуспендирате, 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.
Seeding density	3 до 4 x 10^4 клетки/cm^2 ще дадат конфулентен слой за около 4 дни
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10^4 клетки/cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Клетки DAN-G | 300162

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.

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 °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 антимикробен агент с температура 37 °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 разбъркате 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°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Клетки DAN-G | 300162

Freezing Procedure	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.
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.
HLA алели	**A***: '02:01:01 **B***: '07:02:01, '13:02:01 **C***: '06:02:01, '07:02:01 **DRB1***: '07:01:01, '15:01:01 **DQA1***: '01:02:01, '02:01:01 **DQB1***: '02:02:01, '06:02:01 **DPB1***: '04:01:01, '17:01:01 **E**: '01:03:02