

D283Med buňky | 300330**Obecné informace****Description**

Buněčná linie D283Med je lidská buněčná linie meduloblastomu, která byla odvozena z mozečku šestiletého muže. Meduloblastom je typ primitivního neuroektodermálního nádoru, který postihuje především děti a nachází se v mozečku, části mozku zodpovědné za kontrolu motoriky a koordinaci. Buňky D283Med se hojně využívají v onkologickém výzkumu, zejména ve studiích zaměřených na biologii a farmakologii meduloblastomů.

Tato buněčná linie vykazuje adherentní růstový vzorec a byla hojně využívána ke zkoumání molekulárních drah zapojených do patogeneze meduloblastomu, jako jsou signální dráhy Sonic Hedgehog (SHH) a WNT, o nichž je známo, že hrají významnou roli při vývoji a progresi těchto nádorů. Vědci využívají linii D283Med k hodnocení účinnosti a rezistence na léčbu, studiu profilů genové exprese a zkoumání nových terapeutických cílů. Díky robustnímu růstu a typickým genetickým vlastnostem meduloblastomu je tato linie cenným modelem pro preklinické studie zaměřené na pochopení biologie nádoru a testování protinádorových léčiv.

Buňky D283Med se dále využívají v genetických studiích k pochopení vlivu mutací a k posouzení mechanismů metastazování a recidivy u meduloblastomu. Poskytují zásadní nástroj pro zkoumání onkogenních procesů na buněčné úrovni, čímž významně přispívají k vývoji cílené léčby tohoto agresivního dětského mozkového nádoru.

Organism Člověk**Tissue** Mozek**Disease** Meduloblastom**Applications** 3D buněčné kultury, Neurovědy**Synonyms** D283 Med, D283 MED, D283-MED, D283_Med, D-283 Med, D-283MED, D283MED, D283-Med, D-283, D283, Med 283, H283**Charakteristika****Age** 6 let**Gender** Muži**Ethnicity** Evropská**Morphology** Epitelové**Growth properties** Klastry v suspenzi/adherenci

D283Med buňky | 300330**Regulační údaje**

Citation	D283Med (katalogové číslo Cytion 300330)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1155

Biomolekulární data

Protein expression	Glutamin syntetáza pozitivní, neuron specifická enoláza pozitivní, gliální fibrilární kyselý proteiny negativní, protein S100 (S-100) negativní
Isoenzymes	AK-1, 1, ES-D, 1, G6PD, B, GLO-I, 2, Me-2, 0, PGM1, 1, PGM3, 1
Tumorigenic	Ano, u nahých myší
Karyotype	Karyotyp je 45, xY, -7, -8, -17, -20, der(20)t(1,20)(q12,q13), 8q+, 17p+ (rozsah = 41 až 46). Jedná se o hypodiploidní buněčnou linii s frekvencí vyšších ploidií 5,4 %. Ve všech buňkách jsou přítomny tři markerové chromozomy. Jsou to: der(20)t(1,20)(q12,q13), 8q+ a 17p+. N7, N17 a N20 mají jednotlivé kopie. Jediné x je strukturálně normální a chromozom Y je přítomen, jak potvrdila fluorescenční mikroskopie.

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO ₃ , w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
Subculturing	Shromážděte suspenzní buňky do 15 ml zkumavky a opatrně opláchněte adheované buňky pomocí PBS bez vápníku a hořčíku (3-5 ml PBS pro buňky T25, 5-10 ml pro buňky T75). Přidejte Accutase (1-2 ml na T25, 2,5 ml na buňku s buněčnou kulturou T75), buněčný list musí být zcela pokryt. Inkubujte při pokojové teplotě po dobu 10 minut, poté odstředte buňky rostoucí v suspenzi a adherentní buňky dohromady. Buňky opatrně resuspendujte a rozdělte do nových baněk, které obsahují čerstvé médium.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

D283Med buňky | 300330

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při $300 \times g$ po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

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

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

D283Med buňky | 300330

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

PEZ6: RPMI 8226