

DAN-G rakud | 300162

Üldine teave

Description

DAN-G rakuliin on saadud inimese kõhunäärme kartsinoomist. Seda kasutatakse laialdaselt kõhunäärmevähi käsitlevates uuringutes, eelkõige kasvajate tekke, metastaaside ja keemiaravi resistentsuse uuringutes. DAN-G geneetiline profiil sisaldab mutatsioone peamistes onkogeenides ja kasvajasupressorgeenides, mis on iseloomulikud kõhunäärme adenokartsinoomidele. See muudab rakuliini väärtuslikuks mudeliks kõhunäärmevähi aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide mõistmiseks ja uute ravistrateegiate katsetamiseks.

Lisaks rakendustele vähiuuringutes on DAN-G rakuliini kasutatud ka kõhunäärme ductuse adenokartsinoomi progresseerumise rakuprotsesside, sealhulgas rakutsükli regulatsiooni, apoptoosi ja signaaliülekanne radade uurimiseks. Rakkudel on agressiivsed in vitro kasvuomadused ja nad on võimelised moodustama tuumoreid immuunpuudulikkusega hiirtel, mis simuleerib inimhaigust ja pakub in vivo süsteemi vähivastaste ravimite tõhususe hindamiseks. Teadlased kasutavad seda rakuliini ka selleks, et uurida kasvaja mikrokeskkonna rolli kõhunäärmevähi progresseerumises ja resistentsuses ravile.

Organism Inimene

Tissue Pankreas

Disease Adenokartsinoom

Synonyms Dan-G, DanG, DANG

Omadused

Age 68 aastat

Gender Naised

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation DAN-G (Cytioni katalooginumber 300162)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

DAN-G rakud | 300162

CellosaurusAccession CVCL_0243

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression P53 negatiivne**Tumorigenic** Jah, alasti hiirtel**Mutational profile** DAN-G rakud kannavad homosügootselt Kras-mutatsioone koodonis12: GGT(Gly) >GTT(Val)

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 33 tundi**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density** 3 kuni 4×10^4 rakku/cm² moodustavad umbes 4 päeva jooksul konfluentse kihi.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Post-Thaw Recovery** Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

DAN-G rakud | 300162

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

DAN-G rakud | 300162

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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