

## D283Med rakud | 300330

## Üldine teave

## Description

D283Med rakuliin on inimese medulloblastoomi rakuliin, mis on saadud 6-aastase mehe väikeajust. Medulloblastoom on primitiivse neuroektodermise kasvaja tüüp, mis esineb peamiselt lastel ja asub väikeajus, mis on aju osa, mis vastutab motoorse kontrolli ja koordineerimise eest. D283Med rakke kasutatakse laialdaselt onkoloogilistes uuringutes, eelkõige medulloblastoomide bioloogiat ja farmakoloogiat käsitlevates uuringutes.

Sellel rakuliinil on kleepuv kasvumuster ja seda on laialdaselt kasutatud medulloblastoomi patogeneesis osalevate molekulaarsete, näiteks Sonic Hedgehogi (SHH) ja WNT signaaliradade uurimiseks, millel on teadaolevalt oluline roll nende kasvujate arengus ja progresseerumises. Teadlased kasutavad D283Med liini terapeutilise efektiivsuse ja resistentsuse hindamiseks, geeniekspressiooniprofiilide uurimiseks ja uute terapeutiliste sihtmärkide uurimiseks. Selle liini jõuline kasv ja tüüpilised medulloblastoomi geneetilised omadused teevad sellest väärtusliku mudeli prekliinilisteks uuringuteks, mille eesmärk on mõista kasvaja bioloogiat ja katsetada vähivastaseid ravimeid.

Lisaks kasutatakse D283Med rakke geneetilistes uuringutes, et mõista mutatsioonide mõju ning hinnata medulloblastoomi metastaasi ja taastekke mehhanisme. Nad on oluline vahend onkogeneesi protsesside uurimiseks raku tasandil, aidates seeläbi oluliselt kaasa selle agressiivse pediaatrilise ajukasvaja sihtotstarbeliste ravimeetodite väljatöötamisele.

**Organism** Inimene

**Tissue** Aju

**Disease** Medulloblastoom

**Applications** 3D rakukultuur, neuroteadus

**Synonyms** D283 Med, D283 MED, D283-MED, D283\_Med, D-283 Med, D-283MED, D283MED, D283-Med, D-283, D283, D283, Med 283, H283

## Omadused

**Age** 6 aastat

**Gender** Mees

**Ethnicity** Euroopa

**Morphology** Epiteel

**Growth properties** Kinnipeetav

## D283Med rakud | 300330

## Regulatiivsed andmed

<b>Citation</b>	D283Med (Cytioni katalooginumber 300330)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1155

## Biomolekulaarsed andmed

<b>Protein expression</b>	Glutamiini süntesaas positiivne, neuronspetsiifiline enolaas positiivne, gliaalfibrillaarsed happelised valgud negatiivsed, S100 (S-100) valk negatiivne
<b>Isoenzymes</b>	AK-1, 1, ES-D, 1, G6PD, B, GLO-I, 2, Me-2, 0, PGM1, 1, PGM3, 1
<b>Tumorigenic</b>	Jah, alasti hiirtel
<b>Karyotype</b>	Karyotüüp on 45, xY, -7, -8, -17, -20, der(20)t(1,20)(q12,q13), 8q+, 17p+ (vahemik = 41 kuni 46). Tegemist on hüpodiploidse rakuliiniga, mille kõrgema ploidsuse sagedus on 5,4%. Kõikides rakkudes on kolm markerkromosoomi. Need on: der(20)t(1,20)(q12,q13), 8q+ ja 17p+. N7, N17 ja N20 on ühekordsed koopiad. Üksik x on struktuuriliselt normaalne ja Y-kromosoom on olemas, mida kinnitab fluorestsentsmikroskoopia.

## Töötlemine

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
<b>Supplements</b>	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
<b>Subculturing</b>	Koguda suspensioonirakud 15 ml tuubi ja loputada kleepunud rakud hoolikalt kaltsiumi- ja magneesiumivaba PBS-ga (3-5 ml PBS T25, 5-10 ml T75 rakukultuurikolbide puhul). Lisage Accutase (1-2 ml T25, 2,5 ml T75 rakukultuurikolbi kohta), rakukile peab olema täielikult kaetud. Inkubeerige 10 minutit ümbritseval temperatuuril, seejärel tsentrifuugige suspensioonis kasvavad rakud ja adherentsed rakud kokku. Resuspendeerige rakud ettevaatlikult ja doseerige uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötmeainet.
<b>Freeze medium</b>	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.

**D283Med rakud | 300330****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%  $\text{CO}_2$ , 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.

**D283Med rakud | 300330**

**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.