

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 molekulaarradade, 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 onkogeneensete 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 Klastrid riputuses/liidetuna

D283Med rakud | 300330

Regulatiivsed andmed

Citation	D283Med (Cytioni katalooginumber 300330)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1155

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression	Glutamiini süntesaas positiivne, neuronspetsiifiline enolaas positiivne, gliaalfibrillaarsed happelised valgud negatiivsed, S100 (S-100) valk negatiivne
Isoenzymes	AK-1, 1, ES-D, 1, G6PD, B, GLO-I, 2, Me-2, 0, PGM1, 1, PGM3, 1
Tumorigenic	Jah, alasti hiirtel
Karyotype	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

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
Subculturing	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.
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.

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 vial 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 vial 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

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

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.