

D283Med-kennot | 300330

Yleisiä tietoja

Description

D283Med-solulinja on ihmisen medulloblastoomasolulinja, joka on peräisin 6-vuotiaan miehen pikkuaivoista. Medulloblastooma on primitiivisen neuroekodermikasvaimen tyyppi, joka vaikuttaa pääasiassa lapsiin ja sijaitsee pikkuaivoissa, jotka ovat motorisesta hallinnasta ja koordinaatiosta vastaava aivojen osa. D283Med-soluja käytetään laajalti onkologisessa tutkimuksessa, erityisesti medulloblastoomien biologiaan ja farmakologiaan keskittyvissä tutkimuksissa.

Tällä solulinjalla on tarttuva kasvutapa, ja sitä on käytetty laajasti medulloblastooman patogeneesiin liittyvien molekyylireitien, kuten Sonic Hedgehog (SHH) ja WNT-signaalintireittien, tutkimiseen, sillä niillä tiedetään olevan merkittävä rooli näiden kasvainten kehittämisessä ja etenemisessä. Tutkijat käyttävät D283Med-linjaa terapeuttisen tehon ja resistenssin arviointiin, geeniekspressioprofiilien tutkimiseen ja uusien terapeuttisten kohteiden tutkimiseen. Linjan voimakas kasvu ja tyypilliset medulloblastooman geneettiset ominaisuudet tekevät siitä arvokkaan mallin prekliinisiin tutkimuksiin, joilla pyritään ymmärtämään kasvaimen biologiaa ja testaamaan syöpälääkkeitä.

Lisäksi D283Med-soluja hyödynnetään geneettisissä tutkimuksissa mutaatioiden vaikutuksen ymmärtämiseksi ja medulloblastooman etäpesäkkeiden ja uusiutumisen mekanismien arvioimiseksi. Ne tarjoavat ratkaisevan tärkeän välineen onkogeneenisten prosessien tutkimiseen solutasolla ja edistävät siten merkittävästi kohdennettujen hoitojen kehittämistä tähän aggressiiviseen lasten aivokasvaimen.

Organism Ihminen

Tissue Aivot

Disease Medulloblastooma

Applications 3D-soluviljely, Neurotiede

Synonyms D283 Med, D283 MED, D283-MED, D283_Med, D-283 Med, D-283MED, D-283MED, D283MED, D283-Med, D-283, D283, Med 283, H283

Ominaisuudet

Age 6 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Eurooppalainen

Morphology Epiteeli

D283Med-kennot | 300330

Growth properties Klusterit suspensiossa/kiinnittyneinä

Säätelytiedot

Citation D283Med (Cytionin luettelonumero 300330)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1155

Biomolekyyli tiedot

Protein expression Glutamiinisyntetaasi positiivinen, neuronispesifinen enolaasi positiivinen, gliafibrillaariset happamat proteiinit negatiiviset, S100-proteiini (S-100) negatiivinen

Isoenzymes AK-1, 1, ES-D, 1, G6PD, B, GLO-I, 2, Me-2, 0, PGM1, 1, PGM3, 1

Tumorigenic Kyllä, alastomilla hiirillä

Karyotype Karyotyypin on 45, xY, -7, -8, -17, -20, der(20)t(1,20)(q12,q13), 8q+, 17p+ (vaihteluväli = 41-46). Kyseessä on hypodiploidinen solulinja, jossa korkeampien ploidioiden esiintyvyys on 5,4 %. Kaikissa soluissa on kolme merkkikromosomia. Ne ovat: der(20)t(1,20)(q12,q13), 8q+ ja 17p+. N7, N17 ja N20 ovat yksittäiskopioita. Yksittäinen x on rakenteellisesti normaali, ja Y-kromosomi on läsnä, kuten fluoresenssimikroskopiolla on vahvistettu.

Käsittely

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla

Subculturing Kerää suspensiosolut 15 ml:n putkeen ja huuhtelee tarttuneet solut huolellisesti PBS:llä, jossa ei ole kalsiumia ja magnesiumia (3-5 ml PBS:ää T25-soluviljelypulloissa, 5-10 ml T75-soluviljelypulloissa). Lisää Accutase (1-2 ml T25-soluviljelypulloa kohti, 2,5 ml T75-soluviljelypulloa kohti), solulevyn on peitettävä kokonaan. Inkuboidaan huoneenlämmössä 10 minuuttia, sitten sentrifugoidaan suspensiossa kasvavat solut ja adheesiosolut yhteen. Solut suspendoidaan varovasti uudelleen ja annostellaan uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta elatusainetta.

D283Med-kennot | 300330

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g :n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

D283Med-kennot | 300330

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.