

DAN-G sejtek | 300162

Általános információk

Description

A DAN-G sejtvonalt emberi hasnyálmirigy-karcinómából származik. Kiterjedten használják a hasnyálmirigyekkel kapcsolatos kutatásokban, különösen a tumorigenezissel, áttétképződéssel és kemoterápiás rezisztenciával kapcsolatos vizsgálatokban. A DAN-G genetikai profilja kulcsfontosságú onkogének és tumorszuppresszor gének mutációit tartalmazza, amelyek a hasnyálmirigy adenokarcinómákra jellemzőek. Ez teszi a sejtvonalt értékes modellé a hasnyálmirigyek háttérében álló molekuláris mechanizmusok megértéséhez és új terápiás stratégiák teszteléséhez.

A rákkutatásban való alkalmazásán túlmenően a DAN-G sejtvonalt a hasnyálmirigy ductus adenokarcinóma progressziójában szerepet játszó sejtprocesszok, többek között a sejtciklus szabályozás, az apoptózis és a jelátviteli útvonalak tanulmányozására is használták. A sejtek agresszív in vitro növekedési jellemzőket mutatnak, és képesek tumort képezni immunhiányos egerekben, ami szimulálja az emberi betegséget, és in vivo rendszert biztosít a rákellenes gyógyszerek hatékonyságának értékelésére. A kutatók ezt a sejtvonalt a tumor mikroökönyezetének a hasnyálmirigyek progressziójában és a terápiával szembeni rezisztenciában játszott szerepének vizsgálatára is alkalmazzák.

Organism

Emberi

Tissue

Hasnyálmirigy

Disease

Adenokarcinóma

Synonyms

Dan-G, DanG, DANG

Jellemzők

Age

68 év

Gender

Női

Morphology

Epithelszerű

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

DAN-G (Cytion katalógusszám: 300162)

Biosafety level

1

DAN-G sejtek | 300162

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0243

Biomolekuláris adatok

Protein expression P53 negatív

Tumorigenic Igen, meztelen egerekben

Mutational profile A DAN-G sejtek homozigóta Kras mutációt hordoznak a 12-es kodonban: GGT(Gly) >GTT(Val)

A kezelése

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 33 óra

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density 3–4 x 10⁴ sejt/cm² körülbelül 4 nap alatt konfluens réteget képez.

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Post-Thaw Recovery Felolvasztás után helyezze a sejteket 5 x 10⁴ sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

DAN-G sejtek | 300162

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtanyagot 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt-kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

DAN-G sejtek | 300162

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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