

D283Med sejtek | 300330

Általános információk

Description

A D283Med sejtvonal egy humán medulloblastoma sejtvonal, amelyet egy 6 éves férfi kisagyából nyertek. A medulloblastoma a primitív neuroektodermális tumor egy típusa, amely elsősorban gyermekeket érint, és a kisagyban, az agynak a motoros irányításért és koordinációért felelős részében található. A D283Med sejteket széles körben használják az onkológiai kutatásokban, különösen a medulloblastomák biológiájára és farmakológiájára összpontosító vizsgálatokban.

Ez a sejtvonal adherens növekedési mintázatot mutat, és széles körben használták a medulloblastoma patogenezisében szerepet játszó molekuláris útvonalak, például a Sonic Hedgehog (SHH) és a WNT jelátviteli útvonalak feltárására, amelyekről ismert, hogy jelentős szerepet játszanak e daganatok kialakulásában és progressziójában. A kutatók a D283Med vonalat a terápiás hatékonyság és rezisztencia értékelésére, génexpressziós profilok tanulmányozására és új terápiás célpontok feltárására használják. A vonal robusztus növekedése és tipikus medulloblastoma genetikai jellemzői értékes modellt teszik a tumor biológiájának megértésére és a rákellenes gyógyszerek tesztelését célzó preklinikai vizsgálatokhoz.

A D283Med sejteket továbbá genetikai vizsgálatokban is felhasználják a mutációk hatásának megértésére, valamint a medulloblastoma metasztázis- és kiújulási mechanizmusainak értékelésére. A sejtek kulcsfontosságú eszközt jelentenek az onkogén folyamatok sejtszintű vizsgálatához, ezáltal jelentősen hozzájárulnak az agresszív gyermekkori agydaganat célzott terápiáinak kifejlesztéséhez.

Organism Emberi

Tissue Agy

Disease Medulloblastoma

Applications 3D sejtkultúra, Idegtudomány

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

Jellemzők

Age 6 év

Gender Férfi

Ethnicity Európai

Morphology Epithelialis

D283Med sejtek | 300330

Growth properties Klaszterek szuszpenzióban/Adherensben

Szabályozási adatok

Citation D283Med (Cytion katalógusszám 300330)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1155

Biomolekuláris adatok

Protein expression Glutamin-szintetáz pozitív, neuronspecifikus enoláz pozitív, gliafibrilláris savas fehérjék negatív, S100 (S-100) fehérje negatív

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

Tumorigenic Igen, meztelen egerekben

Karyotype A kariotípus 45, xY, -7, -8, -17, -20, der(20)t(1,20)(q12,q13), 8q+, 17p+ (tartomány = 41-46). Ez egy hipodiploid sejtvonallal, a magasabb ploiditások gyakorisága 5,4%. Minden sejtben három marker kromoszóma van jelen. Ezek: der(20)t(1,20)(q12,q13), 8q+ és 17p+. Az N7, az N17 és az N20 egyetlen példányban van jelen. Az egyetlen x szerkezetileg normális, és az Y kromoszóma jelen van, amit fluoreszcens mikroszkópia is megerősít.

A kezelése

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)

Supplements A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni

Subculturing Gyűjtse össze a szuszpenziós sejteket egy 15 ml-es csőbe, és óvatosan öblítse le a megtapadt sejteket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel (3-5 ml PBS T25, 5-10 ml T75 sejttenyésztő lombik esetén). Adjunk hozzá Accutase-t (1-2ml T25-ös, 2,5ml T75-ös sejttenyésztő lombikban), a sejtlapot teljesen le kell fedni. Inkubáljuk 10 percig környezeti hőmérsékleten, majd centrifugáljuk össze a szuszpenzióban növekvő sejteket és a megtapadt sejteket. Óvatosan reszuspendáljuk a sejteket, és adagoljuk új lombikokba, amelyek friss tápfolyadékot tartalmaznak.

D283Med sejtek | 300330**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 sejtuszpenziót 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 sejt pelletet 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 sejt vonal 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

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

D283Med sejtek | 300330

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.

Shipping Conditions

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.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 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 sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.