

## Daoy ląstelės | 305053

## Bendra informacija

## Description

"Daoy" ląstelių linija, kurią 1985 m. sukūrė P. F. Jacobsenas Karališkojoje Perto ligoninėje Vakarų Australijoje, yra žmogaus ląstelių linija, gauta iš meduloblastomos - smegenų naviko, kuris dažniausiai nustatomas vaikams. Ši ląstelių linija atsirado atlikus 4 metų berniuko užpakalinės duobės naviko biopsiją. Meduloblastomos paprastai randamos smegenėlėse, smegenų srityje, kuri yra labai svarbi motorinei kontrolei ir koordinacijai, ir yra dažniausi piktybiniai vaikų smegenų navikai.

Daoy ląstelės plačiai naudojamos kaip modelinė sistema meduloblastomos biologijai, įskaitant naviko atsiradimą, progresavimą ir atsaką į gydymą, tirti. Ši ląstelių linija buvo labai svarbi meduloblastomos tyrimams, ypač siekiant suprasti molekulinis ir genetinius ligos pagrindus, taip pat išbandyti chemoterapinius preparatus. Ląstelėms būdingi piktybinėms meduloblastomoms būdingi požymiai, įskaitant greitą augimą ir gebėjimą formuoti navikus, kai jos persodinamos į imunokompromituotas peles. Tyrimai, atlikti naudojant "Daoy" ląstelių liniją, prisidėjo prie galimų naujų meduloblastomos gydymo būdų ir terapinių taikinių kūrimo.

**Organism** Žmogus

**Tissue** Smegenys, smegenėlės

**Disease** Meduloblastoma

**Synonyms** DAOY, D324 Med, D-324 Med, D324 MED, D-324MED, D-324MED, D324

## Charakteristikos

**Age** 4 metai

**Gender** Vyras

**Ethnicity** Europos

**Morphology** Daugiakampis

**Growth properties** Priglundęs

## Reguliavimo duomenys

**Citation** Daoy (Cytion katalogo numeris 305053)

**Biosafety level** 1

## Daoy ląstelės | 305053

NCBI\_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL\_1167

## Biomolekuliniai duomenys

## Tvarkymas

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 34 valandos**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## Daoy ląstelės | 305053

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## Daoy ląstelės | 305053

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug  $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje. Laikymas  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.