

DAN-G šūnas | 300162

Vispārīga informācija

Description

DAN-G šūnu līnija ir iegūta no cilvēka aizkuņģa dziedzera karcinomas. To plaši izmanto pētījumos, kas vērsti uz aizkuņģa dziedzera vēzi, jo īpaši pētījumos, kas saistīti ar audzēju veidošanos, metastāzēm un rezistenci pret ķīmijterapiju. DAN-G ģenētiskais profils ietver mutācijas galvenajos onkogēnos un audzēju nomācošajos gēnos, kas ir raksturīgas aizkuņģa dziedzera adenokarcinomām. Tas padara šo šūnu līniju par vērtīgu modeli, lai izprastu molekulāros mehānismus, kas ir aizkuņģa dziedzera vēža pamatā, un lai pārbaudītu jaunas terapeitiskās stratēģijas.

DAN-G šūnu līniju izmanto ne tikai vēža pētniecībā, bet arī pankreatiskās ductālās adenokarcinomas progresēšanā iesaistīto šūnu procesu, tostarp šūnu cikla regulācijas, apoptozes un signālu pārnese ceļu, izpētei. Šīm šūnām piemīt agresīvas in vitro augšanas īpašības, un tās spēj veidot audzējus imūnkompromitētām pelēm, kas imitē cilvēka slimību un nodrošina in vivo sistēmu pretvēža zāļu efektivitātes novērtēšanai. Pētnieki šo šūnu līniju izmanto arī, lai pētītu audzēja mikrovides lomu aizkuņģa dziedzera vēža progresēšanā un rezistencē pret terapiju.

Organism Cilvēks

Tissue Aizkuņģa dziedzeris

Disease Adenokarcinoma

Synonyms Dan-G, DanG, DANG

Raksturojums

Age 68 gadi

Gender Sievietes

Morphology Epitēlijveidīgs

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation DAN-G (Cytion kataloga numurs 300162)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

DAN-G šūnas | 300162

CellosaurusAccession CVCL_0243

Biomolekulārie dati

Protein expression

P53 negatīvs

Tumorigenic

Jā, kailām pelēm

Mutational profile

DAN-G šūnās ir homozigotiska Kras mutācija 12. kodonā: GGT(Gly) >GTT(Val)

Darbs ar

Culture Medium

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Supplements

Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Doubling time

33 stundas

Subculturing

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density

3 līdz 4×10^4 šūnas/cm² veidos konfluentu slāni apmēram 4 dienu laikā.

Fluid renewal

2 līdz 3 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery

Pēc atkausēšanas izklaidējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

DAN-G šūnas | 300162

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

DAN-G šūnas | 300162

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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