

DAN-G-cellen | 300162

Algemene informatie

Description

De DAN-G-cel lijn is afgeleid van een humaan pancreascarcinoom. De lijn wordt veel gebruikt in onderzoek naar alvleesklierkanker, met name in studies naar tumorigenese, metastase en resistentie tegen chemotherapie. Het genetische profiel van DAN-G bevat mutaties in belangrijke oncogenen en tumorsuppressorgenen, die kenmerkend zijn voor pancreasadenocarcinomen. Dit maakt de cel lijn tot een waardevol model voor het begrijpen van de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan alvleesklierkanker en voor het testen van nieuwe therapeutische strategieën.

Naast de toepassingen in kankeronderzoek is de DAN-G cel lijn gebruikt om de cellulaire processen te bestuderen die betrokken zijn bij de progressie van pancreas ductaal adenocarcinoom, waaronder celcyclusregulatie, apoptose en signaaltransductiepaden. De cellen vertonen agressieve in vitro groeikenmerken en kunnen tumoren vormen in immuungecompromitteerde muizen, wat de menselijke ziekte simuleert en een in vivo systeem biedt voor het evalueren van de werkzaamheid van medicijnen tegen kanker. Onderzoekers gebruiken deze cel lijn ook om de rol van de tumormicro-omgeving in de progressie van alvleesklierkanker en resistentie tegen therapie te onderzoeken.

Organism

Mens

Tissue

Alvleesklier

Disease

Adenocarcinoom

Synonyms

Dan-G, DanG, DANG

Kenmerken

Age

68 jaar

Gender

Vrouw

Morphology

Epitheelachtig

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation

DAN-G (Cytion catalogusnummer 300162)

Biosafety level

1

DAN-G-cellen | 300162

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0243

Biomoleculaire gegevens

Protein expression P53 negatief

Tumorigenic Ja, in naakte muizen

Mutational profile DAN-G cellen dragen een homozygote Kras-mutatie in codon12: GGT(Gly) >GTT(Val)

Omgaan met

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 33 uur

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio Een verhouding van 1:4 tot 1:8 wordt aanbevolen

Seeding density 3 tot 4 x 10⁴ cellen/cm² zullen in ongeveer 4 dagen een confluent laag vormen.

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Post-Thaw Recovery Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5 x 10⁴ cellen/cm² en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.

DAN-G-cellen | 300162

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DAN-G-cellen | 300162

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 13
D13S317: 8
D16S539: 8,11
D5S818: 12,13
D7S820: 10,13
TH01: 9.3
TPOX: 10
vWA: 16,18
D3S1358: 16
D21S11: 29,31.2
D18S51: 16
Penta E: 7
Penta D: 9,13
D8S1179: 10,11
FGA: 20
D1S1656: 12,17
D6S1043: 12
D2S1338: 17,18
D12S391: 17,20
D19S433: 13,14

DAN-G-cellen | 300162

HLA-allelen

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