

Komórki Daoy | 305053

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa Daoy, stworzona w 1985 r. przez P.F. Jacobsena w Royal Perth Hospital w Australii Zachodniej, jest ludzką linią komórkową pochodzącą z rdzeniaka, rodzaju guza mózgu występującego głównie u dzieci. Ta linia komórkowa pochodzi z biopsji guza tylnego dołu czaszki u 4-letniego chłopca. Medulloblastoma są zwykle zlokalizowane w mózdzku, obszarze mózgu kluczowym dla kontroli motorycznej i koordynacji, i są najczęstszymi złośliwymi guzami mózgu u dzieci.

Komórki Daoy są szeroko stosowane jako system modelowy do badania biologii rdzeniaka, w tym inicjacji guza, progresji i odpowiedzi na terapię. Linia komórkowa odegrała kluczową rolę w badaniach nad rdzeniakiem, szczególnie w zrozumieniu molekularnych i genetycznych podstaw choroby, a także w testowaniu środków chemioterapeutycznych. Komórki wykazują typowe cechy złośliwych rdzeniaków, w tym szybkie tempo wzrostu i zdolność do tworzenia guzów po przeszczepieniu do myszy z obniżoną odpornością. Badania z wykorzystaniem linii komórkowej Daoy przyczyniły się do opracowania potencjalnych nowych metod leczenia i celów terapeutycznych dla rdzeniaka.

Organism Człowiek

Tissue Mózg, mózdzek

Disease Medulloblastoma

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

Charakterystyka

Age 4 lata

Gender Męczyzna

Ethnicity Europejski

Morphology Wielokątny

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation Daoy (numer katalogowy Cytion 305053)

Biosafety level 1

Komórki Daoy | 305053**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1167**Dane biomolekularne****Obsługa****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements** Uzuppełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 34 godziny**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** 1:2 do 1:5**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki Daoy | 305053

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki Daoy | 305053

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11
D13S317: 13,14
D16S539: 10
D5S818: 11,13
D7S820: 8,10
TH01: 9
TPOX: 8,10
vWA: 14,20
D3S1358: 15
D21S11: 29,31.2
D18S51: 12
Penta E: 7,11
Penta D: 10,13
D8S1179: 13,15
FGA: 23
D1S1656: 17.3
D6S1043: 12
D2S1338: 29,31.2
D12S391: 20
D19S433: 14.2