

Komórki DAN-G | 300162

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa DAN-G pochodzi z ludzkiego raka trzustki. Jest ona szeroko wykorzystywana w badaniach nad rakiem trzustki, w szczególności w badaniach dotyczących nowotworzenia, przerzutów i oporności na chemioterapię. Profil genetyczny DAN-G obejmuje mutacje w kluczowych onkogenach i genach supresorowych nowotworów, które są charakterystyczne dla gruczolakoraków trzustki. Sprawia to, że ta linia komórkowa jest cennym modelem do zrozumienia mechanizmów molekularnych leżących u podstaw raka trzustki i do testowania nowych strategii terapeutycznych.

Oprócz zastosowań w badaniach nad rakiem, linia komórkowa DAN-G została wykorzystana do badania procesów komórkowych zaangażowanych w progresję gruczolakoraka przewodowego trzustki, w tym regulacji cyklu komórkowego, apoptozy i szlaków transdukcji sygnału. Komórki wykazują agresywną charakterystykę wzrostu *in vitro* i mają zdolność do tworzenia guzów u myszy z obniżoną odpornością, co symuluje ludzką chorobę i zapewnia system *in vivo* do oceny skuteczności leków przeciwnowotworowych. Naukowcy wykorzystują również tę linię komórkową do badania roli mikrośrodowiska guza w progresji raka trzustki i oporności na leczenie.

Organism Człowiek

Tissue Trzustka

Disease Gruczolakorak

Synonyms Dan-G, DanG, DANG

Charakterystyka

Age 68 lat

Gender Kobieta

Morphology Podobny do nabłonka

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation DAN-G (numer katalogowy Cytion 300162)

Biosafety level 1

Komórki DAN-G | 300162

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0243

Dane biomolekularne

Protein expression P53 ujemny

Tumorigenic Tak, u nagich myszy

Mutational profile Komórki DAN-G są nosicielami homozygotycznej mutacji Kras w kodonie 12: GGT(Gly) >GTT(Val)

ObsługaCulture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)

Supplements Uzupetnić podłoże 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 33 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 Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:8

Seeding density 3 do 4 x 10⁴ komórek/cm² utworzy zlewającą się warstwę w ciągu około 4 dni.

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Post-Thaw Recovery Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5 x 10⁴ komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

Komórki DAN-G | 300162

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.

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 próbówki 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 zawiesinowych, 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

Brak

Komórki DAN-G | 300162

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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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 wykluczone 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.

Komórki DAN-G | 300162

Profil STR

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

Allele HLA

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