

**Células DAN-G | 300162****Informações gerais****Description**

A linha celular DAN-G é derivada de um carcinoma pancreático humano. É amplamente utilizada em investigação centrada no cancro pancreático, particularmente em estudos relacionados com a tumorigénese, metástases e resistência à quimioterapia. O perfil genético da DAN-G inclui mutações nos principais oncogenes e genes supressores de tumores, que são características dos adenocarcinomas pancreáticos. Este facto faz desta linha celular um modelo valioso para compreender os mecanismos moleculares subjacentes ao cancro do pâncreas e para testar novas estratégias terapêuticas.

Para além das suas aplicações na investigação do cancro, a linha celular DAN-G tem sido utilizada para estudar os processos celulares envolvidos na progressão do adenocarcinoma ductal pancreático, incluindo a regulação do ciclo celular, a apoptose e as vias de transdução de sinal. As células apresentam características agressivas de crescimento in vitro e têm a capacidade de formar tumores em ratinhos imunocomprometidos, o que simula a doença humana e proporciona um sistema in vivo para avaliar a eficácia de fármacos anticancerígenos. Os investigadores também utilizam esta linha celular para investigar o papel do microambiente tumoral na progressão do cancro pancreático e na resistência à terapia.

**Organism** Humano**Tissue** Pâncreas**Disease** Adenocarcinoma**Synonyms** Dan-G, DanG, DANG**Caraterísticas****Age** 68 anos**Gender** Feminino**Morphology** De tipo epitelial**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** DAN-G (número de catálogo Cytion 300162)**Biosafety level** 1

**Células DAN-G | 300162****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0243**Dados biomoleculares****Protein expression** P53 negativo**Tumorigenic** Sim, em ratinhos nus**Mutational profile** As células DAN-G são portadoras de uma mutação Kras em homozigotia no códdo 12: GGT(Gly) >GTT(Val)**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 33 horas**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** 3 a 4 x 10<sup>4</sup> células/cm<sup>2</sup> produzirão uma camada confluyente em cerca de 4 dias.**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5 x 10<sup>4</sup> células/cm<sup>2</sup> e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

## Células DAN-G | 300162

### Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

## Células DAN-G | 300162

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

### Alelos 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