

Клітини DAN-G | 300162

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія DAN-G отримана з карциноми підшлункової залози людини. Вона широко використовується в дослідженнях раку підшлункової залози, особливо в дослідженнях, що стосуються пухлиноутворення, метастазування та резистентності до хіміотерапії. Генетичний профіль DAN-G включає мутації в ключових онкогенах і генах-супресорах пухлин, характерних для аденокарцином підшлункової залози. Це робить клітинну лінію цінною моделлю для розуміння молекулярних механізмів, що лежать в основі раку підшлункової залози, і для тестування нових терапевтичних стратегій.

Крім застосування в дослідженнях раку, клітинна лінія DAN-G використовується для вивчення клітинних процесів, що беруть участь у прогресуванні протокової аденокарциноми підшлункової залози, включаючи регуляцію клітинного циклу, апоптоз і шляхи передачі сигналу. Клітини демонструють агресивний ріст *in vitro* і мають здатність утворювати пухлини у мишей з ослабленим імунітетом, що імітує людське захворювання і забезпечує систему *in vivo* для оцінки ефективності протиракових препаратів. Дослідники також використовують цю клітинну лінію для вивчення ролі мікрооточення пухлини у прогресуванні раку підшлункової залози та резистентності до терапії.

Organism Людина

Tissue Підшлункова залоза

Disease Аденокарцинома

Synonyms Dan-G, DanG, DANG

Характеристики

Age 68 років

Gender Жінка

Morphology Епітеліальноподібні

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation DAN-G (номер за каталогом 300162)

Biosafety level 1

Клітини DAN-G | 300162

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0243

Біомолекулярні дані

Protein expression P53 негативний

Tumorigenic Так, у голих мишей

Mutational profile Клітини DAN-G несуть гомозиготну мутацію Kras в кодоні 12: GGT(Gly) >GGT(Val)

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO₃ (номер за каталожним номером 820700a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS

Dissociation Reagent Аккутаза

Doubling time 33 години

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300хг протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Seeding density $3-4 \times 10^4$ клітин/см² утворять конфузний шар приблизно за 4 дні.

Fluid renewal 2-3 рази на тиждень

Post-Thaw Recovery Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^4 клітин/см² і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

Клітини DAN-G | 300162

Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Клітини DAN-G | 300162

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

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