

Detroit-562 rakud | 300399

Üldine teave

Description

Detroit-562 on inimese rakuliin, mis on saadud täiskasvanud mehe neelukartsinoomi metastaatilise asukohast. Need rakud on loodud platinakartsinoomi mudeliks ja on eriti väärtuslikud kasvaja progresseerumise ja metastaaside tekkimise bioloogiliste ja molekulaarsete mehhanismide uurimiseks. Detroit-562 rakkudel on epiteliaalne morfoloogia ja nad on võimelised moodustama lamerakk-kartsinoomi, kui neid siirdatakse immuunpuudulikku hiirele, mis teeb neist tugeva in vivo mudeli vähiuuringuteks.

Seda rakuliini on laialdaselt kasutatud vähi arengus võtmetähtsusega raku signaaliradade, näiteks epidermise kasvufaktori retseptori (EGFR) uurimisel. Teadlased on kasutanud Detroit-562 rakke ka võimalike ravimeetodite, sealhulgas ravimite skriiningu ja kiiritusravi tõhususe uurimiseks. Nende tundlikkus erinevate kemoterapeutiliste ainete suhtes muudab nad kriitiliseks vahendiks uute vähivastaste ühendite farmakoloogilisel hindamisel.

Organism Inimene

Tissue Näärme

Disease Kartsinoom

Metastatic site Pleuraefusioon

Synonyms DETROIT 562, Detroit 562, Detroit562, DETROIT562, Det 562, Det. 562, Det562, Det562, D562

Omadused

Age Täiskasvanud

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

Citation Detroit-562 (Cytioni katalooginumber 300399)

Detroit-562 rakud | 300399

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1171

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression P53 positiivne

Isoenzymes G6PD, B

Reverse transcriptase Negatiivne

Products Keratiin

Töötlemine

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 1×10^4 rakku/cm² moodustab umbes 4 päeva jooksul konfluentse kihi.

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Detroit-562 rakud | 300399

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialid jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialid kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialid ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärseid katsetulemusi.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Detroit-562 rakud | 300399

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

A*: '26:01:01, '30:01:01

B*: '13:02:01, '55:01:01

C*: '01:02:01, '06:02:01

DRB1*: '07:01:01, '11:01:01

DQA1*: '02:01:01, '05:03:01

DQB1*: '03:xx

DPB1*: '04:01:01, '14:01:01

E: '01:01:01, '01:03:01