

Detroit-562 šūnas | 300399

Vispārīga informācija

Description

Detroit-562 ir cilvēka šūnu līnija, kas iegūta no pieauguša vīrieša rīkles karcinomas metastāzes vietas. Šīs šūnas, kas izveidotas kā plakanšūnu karcinomas modelis, ir īpaši vērtīgas, lai pētītu bioloģiskos un molekulāros mehānismus, kas saistīti ar audzēja progresēšanu un metastāzēm. Detroit-562 šūnām piemīt epitēlija morfoloģija, un, pārstādītas imūnkompromitētām pelēm, tās spēj veidot plakanšūnu karcinomas, padarot tās par stabilu in vivo modeli vēža pētījumiem.

Šī šūnu līnija ir plaši izmantota, pētot šūnu signalizācijas ceļus, kas ir būtiski vēža attīstībā, piemēram, tos, kas saistīti ar epidermālā augšanas faktora receptoru (EGFR). Pētnieki ir arī izmantojuši Detroit-562 šūnas, lai izpētītu potenciālās terapeitiskās pieejas, tostarp zāļu skrīninga un staru terapijas efektivitāti. To reaktivitāte pret dažādiem ķīmijterapeitiskiem līdzekļiem padara tās par būtisku instrumentu jaunu pretvēža savienojumu farmakoloģiskai novērtēšanai.

Organism Cilvēks

Tissue Rīkles

Disease Karcinoma

Metastatic site Pleiras izsvīdums

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

Raksturojums

Age Pieaugušo

Gender Sievietes

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Epitēlijveidīgs

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation Detroit-562 (Cytion kataloga numurs 300399)

Detroit-562 šūnas | 300399

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1171

Biomolekulārie dati

Protein expression P53 pozitīvs

Isoenzymes G6PD, B

Reverse transcriptase Negatīvs

Products Keratīns

Darbs ar

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density 1×10^4 šūnas/cm² veidos konfluentu slāni apmēram 4 dienu laikā.

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Detroit-562 šūnas | 300399**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Detroit-562 šūnas | 300399

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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