

Detroit-562 bunky | 300399

Všeobecné informácie

Description

Detroit-562 je ľudská bunková línia odvodená z metastatického ložiska karcinómu hltana u dospelého muža. Tieto bunky boli vytvorené ako model pre skvamocelulárny karcinóm a sú mimoriadne cenné na štúdium biologických a molekulárnych mechanizmov, ktoré sa podieľajú na progresii nádoru a metastázovaní. Bunky Detroit-562 vykazujú epitelovú morfológiu a po transplantácii do imunokompromitovaných myší sú schopné vytvárať spinocelulárne karcinómy, čo z nich robí robustný in vivo model pre výskum rakoviny.

Táto bunková línia sa vo veľkej miere využíva pri skúmaní bunkových signálnych dráh, ktoré sú kľúčové pri vývoji rakoviny, ako napríklad dráhy zahŕňajúce receptor epidermálneho rastového faktora (EGFR). Výskumníci využili bunky Detroit-562 aj na skúmanie potenciálnych terapeutických prístupov vrátane skríningu liekov a účinnosti rádioterapie. Ich reaktivita na rôzne chemoterapeutiká z nich robí dôležitý nástroj pri farmakologickom hodnotení nových protinádorových zlúčenín.

Organism Ľudské

Tissue Hltan

Disease Karcinóm

Metastatic site Pleurálny výpotok

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

Charakteristika

Age Dospelí

Gender Ženy

Ethnicity Kaukazský

Morphology Epitelu podobné

Growth properties Monovrstva, priliehajúca

Regulačné údaje

Citation Detroit-562 (katalógové číslo Cytion 300399)

Detroit-562 bunky | 300399

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1171

Biomolekulárne údaje

Protein expression P53 pozitívny

Isoenzymes G6PD, B

Reverse transcriptase Negatívne

Products Keratín

Spracovanie

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)

Supplements Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Seeding density 1×10^4 buniek/cm² vytvorí konfluentnú vrstvu za približne 4 dni.

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

Detroit-562 bunky | 300399

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Detroit-562 bunky | 300399

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Alely HLA

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