

Celice Detroit-562 | 300399**Splošne informacije****Description**

Detroit-562 je človeška celična linija, pridobljena iz metastatskega žariščnega karcinoma pri odraslem moškem. Te celice so bile ustanovljene kot model za ploščatocelični karcinom in so še posebej dragocene za preučevanje bioloških in molekularnih mehanizmov, vključenih v napredovanje tumorja in metastaziranje. Celice Detroit-562 imajo epiteljsko morfologijo in lahko tvorijo ploščatocelične karcinome, ko so presajene v imunokompromitirane miši, zato so zanesljiv model in vivo za raziskave raka.

Ta celična linija je bila pogosto uporabljena pri preučevanju celičnih signalnih poti, ki so ključne za razvoj raka, kot so tiste, ki vključujejo receptor za epidermalni rastni faktor (EGFR). Raziskovalci so celice Detroit-562 uporabili tudi za raziskovanje potencialnih terapevtskih pristopov, vključno s presejanjem zdravil in učinkovitostjo radioterapije. Zaradi njihove odzivnosti na različna kemoterapevtska sredstva so ključno orodje pri farmakološkem ocenjevanju novih protirakavih spojin.

Organism Človek**Tissue** Žrelo**Disease** Karcinom**Metastatic site** Plevralni izliv**Synonyms** DETROIT 562, Detroit 562, Detroit562, DETROIT562, Det 562, Det. 562, Det562, D562**Značilnosti****Age** Odrasli**Gender** Ženske**Ethnicity** Kavkaški**Morphology** Epitelijam podobni**Growth properties** Enoslojni, adherentni**Regulativni podatki****Citation** Detroit-562 (katalogska številka Cytion 300399)

Celice Detroit-562 | 300399

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1171

Biomolekularni podatki

Protein expression P53 pozitiven

Isoenzymes G6PD, B

Reverse transcriptase Negativni

Products Keratin

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 1×10^4 celic/cm² bo v približno 4 dneh oblikovalo konfluentno plast.

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Post-Thaw Recovery Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel^{ic}/cm² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

Celice Detroit-562 | 300399

Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice Detroit-562 | 300399

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključuje z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli 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