

Buňky DU-145 | 300168

Obecné informace

Description

DU145 je lidská buňka karcinomu prostaty s epiteliální morfologií, která se běžně používá při výzkumu karcinomu prostaty. Tato buněčná linie byla vytvořena z mozku 69letého muže s rakovinou prostaty. Exprimují androgenní receptory a jsou považovány za tumorigenní se středním metastatickým potenciálem, přičemž po injekčním podání nahým myším vytvářejí adenokarcinom (stupeň II) odpovídající primární prostatě.

Z hlediska karyotypu jsou buňky DU145 hypotriploidní a mají několik markerových chromozomů, mimo jiné t(11q12q), del(11)(q23), 16q+, del(9)(p11), del(1)(p32). Exprimují několik izoenzymů, včetně AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 a PGM3. Buňky však neexprimují prostatický antigen.

Buňky DU145 jsou slabě pozitivní na kyselou fosfatázu a jsou schopny vytvářet kolonie v měkkém agaru. Ultrastrukturálními analýzami byla zjištěna přítomnost mikrovilů, tonofilament, desmosomů, jakýchkoli mitochondrií, dobře vyvinutého Golgiho a heterogenních lysosomů. Buňky DU145 mají dobu zdvojení přibližně 30-40 hodin a jsou vhodnými hostiteli pro transfekci.

Buňky DU145 jsou cenným nástrojem v terapeutickém výzkumu rakoviny prostaty. Spolu s buněčnými liniemi PC3 a LNCaP je DU145 standardní buněčnou linií karcinomu prostaty používanou v lékařském výzkumu. Spolu s buňkami PC-3 exprimují buňky DU-145 proteiny androgenního receptoru. Při ošetření androgenním ligandem však buňky nevykazovaly stimulaci aktivity reportérového genu reagujícího na AR. Proto jsou tyto buňky považovány za buňky nereagující na androgen.

Organism Člověk

Tissue Prostata

Disease Karcinom

Metastatic site Mozek

Synonyms DU145, Du-145, DU 145, DU_145, DU.145, Duke University 145

Charakteristika

Age 69 let

Gender Muži

Morphology Epitelu podobné

Growth properties Adherentní

Buňky DU-145 | 300168

Regulační údaje

Citation	DU-145 (katalogové číslo Cytion 300168)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0105

Biomolekulární data

Antigen expression	Krevní skupina O, Rh+
Isoenzymes	Me-2, 1-2, PGM3, 2, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, G6PD, B, GLO-1, 2, produkt fenotypové frekvence: 0.0041
Tumorigenic	Formy adenokarcinomu (grade II) odpovídající primárnímu nádoru prostaty
Karyotype	(P75) hypotriploidní až tetraploidní s abnormalitami včetně zlomů, dicentrik, minut a velkého telocentrického markeru

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO ₃ , w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:4 až 1:6

Buňky DU-145 | 300168

Seeding density 2 x 10⁴ buněk/cm² vytvoří konfluentní vrstvu za přibližně 4 dny.

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení nechte buňky alespoň 24 hodin zotavovat z procesu zmrazování.

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstané malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO₂}, zvlhčená atmosféra.

Buňky DU-145 | 300168

Flask Coating Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 10,11,12
D13S317: 12,13,14,15
D16S539: 11,13
D5S818: 10,12,13
D7S820: 7,10,11
TPOX: 11
vWA: 17,18
D3S1358: 16,17
D21S11: 30,33
D18S51: 12
Penta E: 12,14
Penta D: 9,13
D8S1179: 13,14
FGA: 22

Buňky DU-145 | 300168

Alely HLA

A*: '03:21N, '33:03:01

B*: '50:01:01, '57:01:01

C*: '06:02:01

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

DQA1*: '01:01:01, '02:01:01

DQB1*: '03:03:02, '05:01:01

DPB1*: '04:01:01

E: '01:01:01, '01:09