

DU-145 rakud | 300168

Üldine teave

Description

DU145 on inimese eesnäärmevähi rakk, millel on epiteeliline morfoloogia ja mida tavaliselt kasutatakse eesnäärmevähi uuringutes. Rakuliin loodi 69-aastase eesnäärmevähi põdeva mehe ajast. Nad ekspresseerivad androgeeni retseptoreid ja neid peetakse mõõduka metastaatilise potentsiaaliga kasvajateks, moodustades alasti hiirtele süstimisel eesnäärme primaarsele adenokartsinoomile (II aste) vastavat adenokartsinoomi.

Karyotüübi poolest on DU145 rakud hüpotriploidsed ja neil on mitmeid markerkromosoomi, sealhulgas t(11q12q), del(11)(q23), 16q+, del(9)(p11), del(1)(p32) jt. Nad ekspresseerivad mitmeid isoensüüme, sealhulgas AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 ja PGM3. Siiski ei ekspresseeri rakud eesnäärme antigeeni.

DU145 rakud on happelise fosfataasi suhtes nõrgalt positiivsed ja võimelised moodustama kolooniaid pehmel agaril. Ultrastruktuursete analüüside käigus teatati mikrovillide, tonofilamentide, desmosoomide, mis tahes mitokondrite, hästi arenenud Golgide ja heterogeensete lüsoosoomide esinemisest. DU145 rakkude kahekordistumisaeg on ligikaudu 30-40 tundi ja need on sobivad transfektsioonikandjad.

DU145 rakud on väärtuslik vahend eesnäärmevähi terapeutilistes uuringutes. Koos PC3 ja LNCaP rakuliinidega on DU145 standardne eesnäärmevähi rakuliin, mida kasutatakse meditsiinilistes uuringutes. Koos PC-3 rakkudega ekspresseerivad DU-145 rakud androgeeni retseptori valke. Androgeeniligandiga ravimisel ei näidanud rakud siiski AR-le reageeriva reportergeeni aktiivsuse stimuleerimist. Seetõttu peetakse neid rakke androgeenile mittevastavaks.

Organism Inimene

Tissue Eesnäärme

Disease Kartsinoom

Metastatic site Aju

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

Omadused

Age 69 aastat

Gender Mees

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Kinnipeetav

DU-145 rakud | 300168

Regulatiivsed andmed

Citation	DU-145 (Cytioni katalooginumber 300168)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0105

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression	Veregrupp O, Rh+
Isoenzymes	Me-2, 1-2, PGM3, 2, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, G6PD, B, GLO-1, 2, fenotüübi sageduse toode: 0.0041
Tumorigenic	Moodustab adenokartsinoomi (II aste), mis vastab eesnäärme primaarsele seisundile
Karyotype	(P75) hüpotriploidne kuni tetraploidne, millel on kõrvalekaldeid, sealhulgas katkestused, ditsentrilised, minutid ja suur telotsentriline marker

Töötlemine

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , 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	2×10^4 rakku/cm ² moodustavad umbes 4 päeva jooksul konfluentse kihi.

DU-145 rakud | 300168

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist laske rakkudel vähemalt 24 tundi külmutamisest taastuda.

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

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialal 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 terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialali 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 vialali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernetant 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 usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating Puudub

DU-145 rakud | 300168

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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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 luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

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

HLA alleles

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