

DU-145 ląstelės | 300168

Bendra informacija

Description

DU145 yra žmogaus prostatos vėžio ląstelė, pasižyminti epitelio morfologija, paprastai naudojama prostatos vėžio tyrimams. Ląstelių linija buvo sukurta iš 69 metų vyro, sergančio prostatos vėžiu, smegenų. Jos išreiškia androgenų receptorių ir yra laikomos tumorigeninėmis, turinčiomis vidutinį metastazavimo potencialą, o išvirkštos į nuogas peles suformuoja adenokarcinomą (II laipsnio), atitinkančią prostatos pirminę formą.

Pagal kariotipą DU145 ląstelės yra hipotriploidinės ir turi kelias žymėtąsias chromosomas, įskaitant t(11q12q), del(11)(q23), 16q+, del(9)(p11), del(1)(p32) ir kt. Jie ekspresuoja keletą izofermentų, įskaitant AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 ir PGM3. Tačiau ląstelės neišreiškia prostatos antigeno.

DU145 ląstelės yra silpnai teigiamos rūgštinei fosfatazei ir gali sudaryti kolonijas minkštame agare. Atlikus ultrastruktūrinius tyrimus nustatyta, kad yra mikrovilių, tonofilamentų, desmosomų, bet kokių mitochondrijų, gerai išsivysčiusių Golgio ir heterogeninių lizosomų. DU145 ląstelių padvigubėjimo laikas yra maždaug 30-40 valandų, todėl jos yra tinkami transfekcijos šeimininkai.

DU145 ląstelės yra vertingas įrankis prostatos vėžio terapiniams tyrimams. Kartu su PC3 ir LNCaP ląstelių linijomis DU145 yra standartinė prostatos vėžio ląstelių linija, naudojama mediciniuose tyrimuose. Kartu su PC-3 ląstelėmis DU-145 ląstelės ekspresuoja androgenų receptorių baltymus. Tačiau, veikiant androgenų ligandui, ląstelės nerodė į AR reaguojančio reporterio geno aktyvumo stimuliacijos. Todėl šios ląstelės laikomos nereaguojančiomis į androgenus.

Organism Žmogus

Tissue Prostatos

Disease Karcinoma

Metastatic site Smegenys

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

Charakteristikos

Age 69 metai

Gender Vyras

Morphology | epitelį panašus

Growth properties Priglundęs

DU-145 ląstelės | 300168

Reguliavimo duomenys

Citation	DU-145 (Cytion katalogo numeris 300168)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0105

Biomolekuliniai duomenys

Antigen expression	Kraujo tipas O, Rh+
Isoenzymes	Me-2, 1-2, PGM3, 2, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, G6PD, B, GLO-1, 2, Fenotipo dažnio produktas: 0.0041
Tumorigenic	Formuojasi adenokarcinoma (II laipsnio), atitinkanti prostatos pirminę formą
Karyotype	(P75) nuo hipotriploidinio iki tetraploidinio su anomalijomis, įskaitant lūžius, dicentriką, minutes ir didelę telocentrinę žymę

Tvarkymas

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	2×10^4 ląstelės/cm ² per maždaug 4 dienas sudarys konfluentinį sluoksnį.

DU-145 ląstelės | 300168**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Post-Thaw Recovery** Po atšildymo leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso bent 24 valandas.**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.**Thawing and Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švairiu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.**Flask Coating** Nėra

DU-145 ląstelės | 300168

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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