

DU-145 šūnas | 300168

Vispārīga informācija

Description

DU145 ir cilvēka prostatas vēža šūna ar epitēlija morfoloģiju, ko parasti izmanto prostatas vēža pētījumos. Šūnu līnija tika iegūta no 69 gadus veca vīrieša smadzenēm, kuram bija prostatas vēzis. Tās ekspresē androgēnu receptorus un tiek uzskatītas par tumorigēnām ar mērenu metastātisku potenciālu, veidojot adenokarcinomu (II pakāpes), kas atbilst prostatas primārajai, kad tās injicē nude pelēm.

Kariototipa ziņā DU145 šūnas ir hipotriploīdas, un tām ir vairākas marķieru hromosomas, tostarp t(11q12q), del(11)(q23), 16q+, del(9)(p11), del(1)(p32) un citas. Tās ekspresē vairākus izoenzīmus, tostarp AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 un PGM3. Tomēr šūnas neekspresē prostatas antigēnu.

DU145 šūnas ir vāji pozitīvas skābās fosfatāzes noteikšanai un spēj veidot kolonijas mikstajā agārā. Ultrastrukturālās analīzēs tika konstatēts, ka šūnās ir mikrovilas, tonofilamenti, desmosomas, mitohondriji, labi attīstīti Golgi un heterogēnas lizosomas. DU145 šūnu dubultošanās laiks ir aptuveni 30-40 stundas, un tās ir piemērotas transfekcijas saimnieces.

DU145 šūnas ir vērtīgs instruments prostatas vēža terapeitiskajos pētījumos. Kopā ar PC3 un LNCaP šūnu līnijām DU145 ir standarta prostatas vēža šūnu līnija, ko izmanto medicīnas pētījumos. DU-145 šūnas kopā ar PC-3 šūnām ekspresē androgēnu receptoru proteīnus. Tomēr, kad šūnas tika apstrādātas ar androgēnu ligandu, tās neuzrādīja AR reaģējošā reportiera gēna aktivitātes stimulāciju. Tāpēc šīs šūnas tiek uzskatītas par uz androgēniem nereaģējošām.

Organism Cilvēks

Tissue Prostatas

Disease Karcinoma

Metastatic site Smadzenes

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

Raksturojums

Age 69 gadi

Gender Vīrieši

Morphology Epitēlijveidīgs

Growth properties Adherent

DU-145 šūnas | 300168

Normatīvie dati

Citation	DU-145 (Cytion kataloga numurs 300168)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0105

Biomolekulārie dati

Antigen expression	O asinsgrupa, Rh+
Isoenzymes	Me-2, 1-2, PGM3, 2, PGM3, 2, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, G6PD, B, GLO-1, 2, Fenotipu biežuma produkts: 0.0041
Tumorigenic	Veido adenokarcinomu (II pakāpes), kas atbilst prostatas primārajai formai
Karyotype	(P75) hipotriploīds līdz tetraploīds ar anomālijām, tostarp pārrāvumiem, dicentrikiem, minūtēm un lielu telocentrisku marķieri

Darbs ar

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Seeding density	2×10^4 šūnas/cm ² veidos konfluentu slāni apmēram 4 dienu laikā.

DU-145 šūnas | 300168

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery Pēc atkausēšanas ļaujiet šūnām vismaz 24 stundas atgūties no sasaldēšanas procesa.

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārlicinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating Neviens

DU-145 šūnas | 300168

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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