Product sheet

Komórki DU-145 | 300168

Informacje ogólne

Description	DU145 to ludzka komórka raka prostaty o morfologii nabłonkowej, powszechnie stosowana w badaniach nad rakiem prostaty. Linia komórkowa została utworzona z mózgu 69-letniego mężczyzny z rakiem prostaty. Wyrażają one receptory androgenowe i są uważane za nowotworowe z umiarkowanym potencjałem przerzutowym, tworząc gruczolakoraka (stopień II) zgodnego z pierwotnym rakiem prostaty po wstrzyknięciu do nagich myszy. Pod względem kariotypu komórki DU145 są hipotriploidalne i mają kilka chromosomów markerowych, w tym między innymi t(11q12q), del(11)(q23), 16q+, del(9)(p11), del(1)(p32). Wykazują ekspresję kilku izoenzymów, w tym AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 i PGM3. Komórki te nie wykazują jednak ekspresji antygenu prostaty. Komórki DU145 są słabo dodatnie pod względem kwaśnej fosfatazy i zdolne do tworzenia kolonii w miękkim agarze. Analizy ultrastrukturalne wykazały obecność mikrokosmków, tonofilamentów, desmosomów, mitochondriów, dobrze rozwiniętych Golgiego i heterogennych lizosomów. Komórki DU145 mają czas podwojenia wynoszący około 30-40 godzin i są odpowiednimi gospodarzami transfekcji. Komórki DU145 są cennym narzędziem w badaniach terapeutycznych raka prostaty. Wraz z liniami komórkowymi PC3 i LNCaP, DU145 jest standardową linią komórkową raka prostaty stosowaną w badaniach medycznych. Podobnie jak komórki PC-3, komórki DU-145 wykazują ekspresję białek receptora androgenowego. Jednak pod wpływem ligandu androgenowego komórki te nie wykazywały stymulacji aktywności genu reporterowego reagującego na AR. Dlatego komórki te są uważane za niereagujące na androgeny.
Organism	Człowiek
Tissue	Prostata
Disease	Rak
Metastatic site	Mózg
Synonyms	DU145, Du-145, DU 145, DU_145, DU.145, Duke University 145

Charakterystyka

Age	69 lat
Gender	Mężczyzna
Morphology	Podobny do nabłonka
Growth properties	Adherent

Product sheet

Komórki DU-145 | 300168

Dane regulacyjne

Citation	DU-145 (numer katalogowy Cytion 300168)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0105

Dane biomolekularne

Antigen expression	Grupa krwi O, Rh+
Isoenzymes	Me-2, 1-2, PGM3, 2, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, G6PD, B, GLO-1, 2, Produkt Częstotliwości Fenotypu: 0.0041
Tumorigenic	Gruczolakorak (stopień II) zgodny z pierwotnym gruczołem krokowym
Karyotype	(P75) hipotriploidalny do tetraploidalnego z nieprawidłowościami, w tym przerwami, dicentrami, minutami i dużym markerem telocentrycznym

Obsługa

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:6

Komórki DU-145 | 300168

Seeding density	2 x 10^4 komórek/cm^2 utworzy zlewającą się warstwę w ciągu około 4 dni.
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu należy pozwolić komórkom odzyskać sprawność po procesie zamrażania przez co najmniej 24 godziny.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.

2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.

3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.

4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.

7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.

8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Komórki DU-145 | 300168

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak
Freezing Procedure	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Komórki DU-145 | 300168

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
Allele 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