

Bunky DU-145 | 300168**Všeobecné informácie****Description**

DU145 je ľudská bunka rakoviny prostaty s epitelovou morfológiou, ktorá sa bežne používa vo výskume rakoviny prostaty. Bunková línia bola vytvorená z mozgu 69-ročného muža s rakovinou prostaty. Exprimujú androgénne receptory a považujú sa za tumorigénne so stredným metastatickým potenciálom, pričom po injekčnom podaní nahým myšiam vytvárajú adenokarcinóm (stupeň II) zodpovedajúci primárnej prostate.

Z hľadiska karyotypu sú bunky DU145 hypotriploidné a majú niekoľko markerových chromozómov, okrem iného t(11q12q), del(11)(q23), 16q+, del(9)(p11), del(1)(p32). Exprimujú niekoľko izoenzymov vrátane AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 a PGM3. Bunky však neexprimujú antigén prostaty.

Bunky DU145 sú slabso pozitívne na kyslú fosfatázu a sú schopné vytvárať kolónie v mäkkom agare. Ultraštruktúrnymi analýzami bola zaznamenaná prítomnosť mikroklkov, tonofilament, desmosómov, akýchkoľvek mitochondrií, dobre vyvinutých Golgiho a heterogénnych lyzozómov. Bunky DU145 majú zdvojovací čas približne 30 - 40 hodín a sú vhodnými hositeľmi na transfekciu.

Bunky DU145 sú cenným nástrojom v terapeutickom výskume rakoviny prostaty. Spolu s bunkovými líniami PC3 a LNCaP je DU145 štandardnou bunkovou líniou rakoviny prostaty používanou v medicínskom výskume. Spolu s bunkami PC-3 bunky DU-145 exprimujú proteíny androgénneho receptora. Pri liečbe androgénnym ligandom však bunky nevykazovali stimuláciu aktivity reportérového génu reagujúceho na AR. Preto sa tieto bunky považujú za bunky nereagujúce na androgény.

Organism Ľudské**Tissue** Prostata**Disease** Karcinóm**Metastatic site** Mozog**Synonyms** DU145, Du-145, DU 145, DU_145, DU.145, Duke University 145**Charakteristika****Age** 69 rokov**Gender** Muži**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Adherent

Bunky DU-145 | 300168**Regulačné údaje**

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

Biomolekulárne údaje

Antigen expression	Krvná skupina O, Rh+
Isoenzymes	Me-2, 1-2, PGM3, 2, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, G6PD, B, GLO-1, 2, Produkt frekvencie fenotypov: 0.0041
Tumorigenic	Formy adenokarcinómu (stupeň II) zodpovedajúce primárnej prostate
Karyotype	(P75) hypotriploidný až tetraploidný s abnormalitami vrátane zlomov, dicentier, minút a veľkého telocentrického markera

Spracovanie

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Seeding density	2 x 10 ⁴ buniek/cm ² vytvorí konfluentnú vrstvu za približne 4 dni.

Bunky DU-145 | 300168**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení nechajte bunky aspoň 24 hodín zotaviť sa z procesu zmrazovania.**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.**Thawing and Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.**Flask Coating** Žiadne

Bunky DU-145 | 300168

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

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