

Buňky HPAC | 305309

Obecné informace

Description

Buněčná linie HPAC, odvozená od lidského duktálního adenokarcinomu pankreatu, slouží jako základní model pro studium molekulárních a buněčných charakteristik karcinomu pankreatu. Buňky HPAC, známé svou užitečností při hodnocení vlivu různých chemoterapeutických látek a signálních drah, vykazují klíčové vlastnosti typické pro karcinom pankreatu, včetně mechanismů rezistence. Nedávné studie zahrnující HPAC se zaměřily na pochopení rezistence k lékům, zejména k erlotinibu, inhibitoru tyrozinkinázy, který je cílený na receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR). Výzkum prokázal, že rezistence k erlotinibu je u buněk HPAC spojena s významnými metabolickými změnami, jako jsou změny v metabolismu fosfolipidů a aminokyselin. Konkrétně byly zvýšené hladiny acylkarnitinů s krátkým řetězcem a změny glycerofosfolipidových profilů spojeny se zvýšeným metabolickým stavem v buňkách HPAC rezistentních na erlotinib.

Buňky HPAC také exprimují matrixové metaloproteinázy (MMP), zejména MT1-MMP, což je klíčové pro jejich invazivní chování. Signální dráha Wnt/ β -katenin se podílí na regulaci exprese MMP, což přispívá k migraci a invazivnímu potenciálu buněk. Bylo prokázáno, že aplikace sloučenin, jako je matrin, inhibuje migraci buněk HPAC snížením regulace MT1-MMP prostřednictvím potlačení signalizace Wnt/ β -katenin. Tyto vlastnosti vyzdvihují HPAC jako klíčovou buněčnou linii pro zkoumání terapeutických zásahů zaměřených na zmírnění agresivity a rezistence karcinomu pankreatu vůči léčbě.

Organism

Člověk

Tissue

Pankreas

Disease

Adenokarcinom

Synonyms

Hpac

Charakteristika

Age

64 let

Gender

Ženy

Ethnicity

Kavkazský

Morphology

Epitelu podobné

Cell type

Pankreatické duktální buňky

Growth properties

Adherentní

Buňky HPAC | 305309

Regulační údaje

Citation	HPAC (katalogové číslo Cytion 305309)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3517

Biomolekulární data

Protein expression	Expres genů: keratin pozitivní, vimentin negativní, chromogranin A negativní Epidermální růstový faktor (EGF), exprimovaný; glukokortikoid, exprimovaný; epidermální růstový faktor (EGF); glukokortikoid
Tumorigenic	Ano, u athymických myší
Mutational profile	Mutace: (c.358G>T), homozygotní; Mutace: CDKN2A, p.Glu120Ter (c.358G>T): KRAS, p.Gly12Asp (c.35G>A); mutace: KRAS, p.Gly12Asp (c.35G>A), homozygotní; TP53

Zpracování

Culture Medium	DMEM:Ham's F12, 1,2 g/l hydrogenuhličitanu sodného, 2,5 mM L-glutaminu, 15 mM HEPES, 0,5 mM pyruvátu sodného (0,002 mg/ml inzulínu, 0,005 mg/ml transferinu) ITS+, 40 ng/ml hydrokortizonu, 10 ng/ml myšního epidermálního růstového faktoru (Fisher Scientific cat# CB-40010)
Supplements	Doplňte médium o 5 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:3 až 1:6

Buňky HPAC | 305309**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium**

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žádný

Buňky HPAC | 305309

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.