Product sheet

HPAC rakud | 305309

Üldine teave

Description	HPAC rakuliin, mis on saadud inimese kõhunäärme ductuse adenokartsinoomist, on oluline mudel kõhunäärmevähi molekulaarsete ja rakuliste omaduste uurimiseks. HPAC-rakud on tuntud erinevate kemoterapeutiliste ainete ja signaaliradade mõju hindamisel ning neil on kõhunäärmevähile iseloomulikud põhijooned, sealhulgas resistentsusmehhanismid. Hiljutised uuringud, milles on kasutatud HPACi, on keskendunud ravimresistentsuse mõistmisele, eelkõige erlotiniibi, epidermise kasvufaktori retseptorile (EGFR) suunatud türosiinkinaasi inhibiitori suhtes. Uuringud on näidanud, et HPAC-rakkude resistentsus erlotiniibi suhtes on seotud oluliste metaboolsete muutustega, näiteks muutustega fosfolipiidide ja aminohapete ainevahetuses. Konkreetselt on lühikese ahelaga atsüülkarnitiinide suurenenud tase ja muutused glütserofosfolipiidide profiilides seotud erlotiniibiresistentsete HPAC-rakkude kõrgendatud metaboolse seisundiga. HPAC rakud ekspresseerivad ka maatriksi metalloproteinaase (MMP), eriti MT1-MMP, mis on nende invasiivse käitumise seisukohalt otsustava tähtsusega. Wnt/β-kateniini signaalirada on seotud MMP-de ekspressiooni reguleerimisega, mis aitab kaasa rakkude migratsiooni- ja invasiivsuspotentsiaalile. On näidatud, et selliste ühendite nagu matriini kasutamine pärsib HPAC rakkude migratsiooni, vähendades MT1-MMP-d Wnt/β-kateniini signaaliülekande pärssimise kaudu. Need omadused tõstavad esile HPAC-i kui keskset rakuliini, mille abil uurida terapeutilisi sekkumisi, mille eesmärk on leevendada kõhunäärmevähi agressiivset ja raviresistentset olemust.
Organism	Inimene
Tissue	Pankreas
Disease	Adenokartsinoom
Synonyms	Hpac

Omadused

Age	64 aastat
Gender	Naised
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Epiteelilaadsed
Cell type	Pankrease kaksteistsõrmiksoole rakk
Growth properties	Kinnipeetav

Product sheet

HPAC rakud | 305309

Regulatiivsed andmed

Citation	HPAC (Cytioni kataloginumber 305309)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3517

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression	Ekspresseeritud geenid: keratiin positiivne, vimentiin negatiivne, kromograniin A negatiivne Epidermise kasvufaktor (EGF), ekspresseeritud; glükokortikoid, ekspresseeritud; epidermise kasvufaktor (EGF); glükokortikoid
Tumorigenic	Jah, atüümsetel hiirtel
Mutational profile	Mutatsioon: CDKN2A, p.Glu120Ter (c.358G>T), homosügootne; Mutatsioon: CDKN2A, p.Glu120Ter (c.358G>T), homosügootne: KRAS, p.Gly12Asp (c.35G>A); Mutatsioon: KRAS, p.Gly12Asp (c.35G>A): TP53

Töötlemine

Culture Medium	DMEM: Ham's F12, 1,2 g/L naatriumvesinikkarbonaat, 2,5 mM L-glutamiin, 15 mM HEPES, 0,5 mM naatriumpüruvaat (0,002 mg/ml insuliini, 0,005 mg/ml transferriini) ITS+, 40 ng/ml hüdrokortisooni, 10 ng/ml hiire epidermise kasvufaktorit (Fisher Scientific cat# CB-40010)
Supplements	Täiendada keskkonda 5% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas

HPAC rakud | 305309

Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.
Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp. 4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga. 5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu. 8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.