

Panc 05.04 Rakud | 305394**Üldine teave****Description**

Rakuliin Panc 05.04 on pankrease duktaalne adenokartsinoom (PDAC) mudel, mis on väärtuslik ressurss pankreasevähi bioloogia ja ravivastuste uurimiseks. Inimese pankrease kartsinoomist pärinev Panc 05.04 on prekliinilises uurimistöös oluline vahend, kuna see on seotud ühega kõige agressiivsematest pahaloomulistest kasvajatest, mille puhul on patsientide prognoos halb. Sellel rakuliinil on molekulaarsed ja genoomilised omadused, mis vastavad PDAC-i heterogeensele iseloomule, sealhulgas mutatsioonid, mida tavaliselt täheldatakse KRAS-is, TP53-s ja teistes juhtivates onkogeenides, mis on kõhunäärmevähi progresseerumisel levinud.

Panc 05.04 on põhjalikult iseloomustatud osana suuremahulistest genoomilistest algatustest, nagu näiteks vähirakkude liinide entsüklopeedia (Cancer Cell Line Encyclopedia, CCLE), kus on kirjeldatud selle geeniekspressiooni, koopiaarvu variatsioone ja ravimite suhtes tundlikkust. Eelkõige on Panc 05.04-l hinnatud farmakoloogilist vastust erinevatele vähivastastele ravimitele, mis annab ülevaate selle tundlikkus- või resistentsusprofiilidest kemoterapia ja sihtterapiate suhtes.

Mudelisüsteemina hõlbustab Panc 05.04 uurimistööd, mis käsitleb PDAC-i progresseerumise, kemoresistentsuse ja kasvaja mikrokeskkonnaga toimivate vastastikmõjude aluseks olevaid molekulaarseid mehhanisme. Samuti pakub see platvormi uute sihtterapiate ja immunoteraapiliste strateegiate testimiseks, mille eesmärk on ületada kõhunäärmevähi ravile allumatu iseloom.

Organism

Inimene

Tissue

Pankreas

Disease

Adenokartsinoom

Applications

3D rakukultuur

Synonyms

Panc-05.04, Panc_05_04, Panc05.04, Panc 5.04, Panc5.04, PANC0504, Panc0504, Pa18C, PL-18, PL18

Omadused**Age**

77 aastat

Gender

Naised

Ethnicity

Kaukaasia

Morphology

Epiteelilaadsed

Cell type

Epiteelirakk

Panc 05.04 Rakud | 305394

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation Panc 05.04 (Cytioni katalooginumber 305394)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1637

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression MHC I klass +; MHC II klass –; veregrupp B; Rh+

Oncogenes K-ras+

Tumorigenic Jah; jah, nude- või SCID-hiirtel

Mutational profile Mutatsioon: KRAS, lihtne, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterosügootne

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Lisage kasvukeskkonnale 15% FBS-i ja 20 µg/ml inimese rekombinantse insuliini

Dissociation Reagent Trypsin-EDTA

Doubling time 46 tundi

Panc 05.04 Rakud | 305394**Subculturing**

Rutiinseks adherentseks rakukultuuriks: Aspireerige adhereeruvatelt rakkudelt vana kultuurkeskkond ja peske neid PBS-ga, et eemaldada allesjäänud keskkond. Pärast PBS-i aspiratsiooni lisage sobiv kogus trüpsiini/EDTA lahust vastavalt kasvatusanuma suurusele (nt 1 ml T25 kolvi puhul, 3 ml T75 kolvi puhul) ja inkubeerige toatemperatuuril või 37 °C, kuni rakud eralduvad (5-10 minutit). Jälgige rakkude eraldumist mikroskoobi all ja koputage vajadusel õrnalt anumad, et rakud eralduksid. Kui rakud on eraldunud, lisage trüpsiini/EDTA inaktiveerimiseks täielikku söötmeainet, suspenseerige rakud ettevaatlikult uuesti ja kandke rakususpensiooni alikvoot uude, värsket söötmeainet sisaldavasse kasvatusanumasse. Asetage anum inkubaatorisse, mille temperatuur on 37 °C ja 5% CO_2 , ning vahetage söötme iga 2-3 päeva tagant.

Seeding density

$2-4 \times 10^4/\text{cm}^2$

Fluid renewal

1 kuni 2 korda nädalas

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 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. Adhereerivate 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.

Panc 05.04 Rakud | 305394

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

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 luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.