

PSN-1-rakud | 305618

Üldine teave

Description

PSN-1 rakuliin on inimese pankrease adenokartsinoomi mudel, mis on loodud primaarse pankrease kasvaja põhjal. See on eriti märkimisväärne selle poolest, et selles esinevad nii c-myc-onkogeeni kui ka c-Ki-ras-geeni amplifikatsioonid koos punktmutatsiooniga kodonis 12. See mutatsioon asendab glütsiini arginiiniga (GGT asendub CGT-ga), mille tulemusena tekib c-Ki-ras-i aktiveeritud vorm, millel on transformatsioonipotentsiaal. PSN-1 säilitab samad molekulaarsed omadused kui algne kasvajakude, sealhulgas c-myc 50-kordse amplifikatsiooni ja muteerunud c-Ki-ras 3–6-kordse amplifikatsiooni. Nendele onkogeensetele amplifikatsioonidele kaasneb mõlema geeni märkimisväärselt suurenenud mRNA ekspressioon, mis viitab nende otsustavale rollile kasvaja progresseerumisel.

PSN-1 saadi ebatraditsioonilise protsessi abil, mille käigus külmutatud kasvajakoe, mida oli säilitatud 1,5 aastat temperatuuril -80°C ilma krüokonserveerimisaineteta, siirdati edukalt alasti hiirtele. Saadud ksenotransplantaadist loodi PSN-1 rakuliin, mis näitas in vitro stabiilseid onkogeenseid amplifikatsioone, mis peegeldasid algse kasvaja ja selle metastaatilistes lümfisõlmedes leiduvaid amplifikatsioone. Rakuliinil on heterogeensed kasvutunnused: rakud võivad kas tugevalt kinnituda monokihina või kasvada suspensioonis. See kahepoolne käitumine peegeldab mitmekesist rakupopulatsiooni, mis suudab kohaneda erinevate kultiveerimistingimustega.

Organism

Inimene

Tissue

Pankreas

Disease

Pankrease adenokartsinoom

Applications

3D rakukultuur

Synonyms

PSN1

Omadused

Age

Täpsustamata

Gender

Mees

Ethnicity

Ida-Aasia

Morphology

Epiteelilaadsed

Cell type

Epiteelirakk

Growth properties

Kinnipeetav

PSN-1-rakud | 305618

Regulatiivsed andmed

Citation	PSN-1 (Cytioni katalooginumber 305618)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1644

Biomolekulaarsed andmed

Mutational profile	Geeni deleetsioon: CDKN2A, homosügootne; Geeni deleetsioon: SMAD4, homosügootne; Mutatsioon: KRAS, lihtne, p.Gly12Arg (c.34G>C), heterosügootne; Mutatsioon: TP53, lihtne, p.Lys132Gln (c.394A>C), homosügootne
--------------------	---

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% soojusinaktiveeritud FBS-iga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	21 tundi
Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
Fluid renewal	2 kuni 3 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.

PSN-1-rakud | 305618

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial 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 vial 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 vial 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 söötme keskkond 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% 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 vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid 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

PSN-1-rakud | 305618

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

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