Product sheet

HPAC-solut | 305309

Yleisiä tietoja

Description	HPAC-solulinja, joka on peräisin ihmisen haiman duktaalisesta adenokarsinoomasta, on tärkeä malli haimasyövän molekyyli- ja soluominaisuuksien tutkimiseen. HPAC-soluilla on haimasyövälle tyypillisiä keskeisiä piirteitä, kuten resistenssimekanismeja, ja ne ovat tunnettuja siitä, että ne ovat käyttökelpoisia erilaisten kemoterapeuttisten aineiden ja signaalireittien vaikutusten arvioinnissa. Viimeaikaisissa HPAC-soluja koskevissa tutkimuksissa on keskitytty ymmärtämään lääkeresistenssiä, erityisesti erlotinibille, joka on epidermisen kasvutekijän reseptoriin (EGFR) kohdistuva tyrosiinikinaasin estäjä. Tutkimukset ovat osoittaneet, että HPAC-solujen erlotinibiresistenssiin liittyy merkittäviä metabolisia muutoksia, kuten muutoksia fosfolipidien ja aminohappojen aineenvaihdunnassa. Erityisesti lyhytketjuisten asyylikarnitiinien lisääntyneet pitoisuudet ja muutokset glyserofosfolipidiprofiileissa on yhdistetty kohonneeseen metaboliseen tilaan erlotinibille resistenteissä HPAC-soluissa. HPAC-solut ilmentävät myös matriksin metalloproteinaaseja (MMP), erityisesti MT1-MMP:tä, joka on ratkaisevan tärkeää niiden invasiivisen käyttäytymisen kannalta. Wnt/β-kateniini-signalointireitin on todettu osallistuvan MMP:n ilmentymisen säätelyyn, mikä vaikuttaa osaltaan solujen migraatio- ja invasiopotentiaaliin. Matriinin kaltaisten yhdisteiden käytön on osoitettu estävän HPAC-solujen migraatiota alentamalla MT1-MMP:n toimintaa Wnt/β-kateniinisignaalin tukahduttamisen kautta. Nämä ominaisuudet korostavat, että HPAC on keskeinen solulinja, jolla voidaan tutkia terapeuttisia toimenpiteitä haimasyövän aggressiivisen ja hoitoresistentin luonteen lieventämiseksi.
Organism	Ihminen
Tissue	Haima
Disease	Adenokarsinooma
Synonyms	Hpac

Ominaisuudet

Age	64 vuotta
Gender	Nainen
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Epiteelin kaltainen
Cell type	Haiman ductus-solu
Growth properties	Tarttuva

HPAC-solut | 305309

Sääntelytiedot

Citation	HPAC (Cytionin luettelonumero 305309)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3517

Biomolekyylitiedot

Protein expression	Ilmaistut geenit: keratiini positiivinen, vimentiini negatiivinen, kromograniini A negatiivinen Epidermaalinen kasvutekijä (EGF), ilmentynyt; glukokortikoidi, ilmentynyt; epidermaalinen kasvutekijä (EGF); glukokortikoidi
Tumorigenic	Kyllä, athymic-hiirissä
Mutational profile	Mutaatio: CDKN2A, p.Glu120Ter (c.358G>T), homotsygoottinen; Mutaatio: CDKN2A, p.Glu120Ter (c.358G>T), homotsygoottinen: KRAS, p.Gly12Asp (c.35G>A); Mutaatio: KRAS, p.Gly12Asp (c.35G>A), homosoluinen: TP53

Käsittely

Culture Medium	DMEM:Ham's F12, 1,2 g/L natriumbikarbonaattia, 2,5 mM L-glutamiinia, 15 mM HEPES, 0,5 mM natriumpyruvaattia (0,002 mg/ml insuliinia, 0,005 mg/ml transferriiniä) ITS+, 40 ng/ml hydrokortisonia, 10 ng/ml hiiren epidermaalista kasvutekijää (Fisher Scientific cat# CB-40010)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 5 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa

HPAC-solut | 305309

Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.
Thawing and Culturing Cells	1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana. 2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä. 3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle. 4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista. 5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen. 6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia. 7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi. 8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.