

Panc 05.04 Solut | 305394

Yleisiä tietoja

Description

Panc 05.04 -solulinja on haiman duktaalisen adenokarsinooman (PDAC) malli, joka toimii arvokkaana resurssina haimasyövän biologian ja hoitovasteiden tutkimuksessa. Ihmisen haimasyövästä peräisin oleva Panc 05.04 on keskeinen työkalu prekliinisessä tutkimuksessa, koska se liittyy yhteen aggressiivisimmista pahanlaatuisista kasvaimista, joiden potilaiden ennuste on huono. Tällä solulinjalla on molekyyli- ja genomiominaisuuksia, jotka vastaavat PDAC:n heterogeenistä luonnetta, mukaan lukien KRAS-, TP53- ja muissa haimasyövän etenemisessä yleisesti esiintyvissä ajurionkogeeneissä yleisesti havaittavat mutaatiot.

Panc 05.04:ää on profiloitu laajasti osana laajamittaisia genomi-hankkeita, kuten Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE) -hanketta, jossa sen geeniekspressio, kopioiden lukumäärän vaihtelut ja lääkeherkkyys on karakterisoitu. Erityisesti Panc 05.04:n farmakologista vastetta erilaisille syöpälääkkeille on arvioitu, mikä tarjoaa tietoa sen herkkyys- tai resistenssiprofiileista kemoterapiaan ja kohdennettuihin hoitoihin nähden.

Mallijärjestelmänä Panc 05.04 helpottaa PDAC:n etenemisen, kemoresistenssin ja kasvaimen mikroympäristön vuorovaikutusten taustalla olevien molekyylimekanismien tutkimusta. Se tarjoaa myös alustan uusien kohdennettujen hoitojen ja immunoterapeuttisten strategioiden testaamiselle, joiden tavoitteena on voittaa haimasyövän vaikeasti hoidettava luonne.

Organism Ihminen**Tissue** Haima**Disease** Adenokarsinooma**Applications** 3D-soluviljely**Synonyms** Panc-05.04, Panc_05_04, Panc05.04, Panc 5.04, Panc5.04, PANC0504, Panc0504, Pa18C, PL-18, PL18

Ominaisuudet

Age 77 vuotta**Gender** Nainen**Ethnicity** Kaukasialainen**Morphology** Epiteelin kaltainen**Cell type** Epiteelisolu**Growth properties** Tarttuva

Panc 05.04 Solut | 305394

Säätelytiedot

Citation	Panc 05.04 (Cytion-tuotenumero 305394)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1637

Biomolekyyli tiedot

Antigen expression	MHC-luokka I +; MHC-luokka II -; veriryhmä B; Rh+
Oncogenes	K-ras+
Tumorigenic	Kyllä; kyllä nude- tai SCID-hiirillä
Mutational profile	Mutaatio: KRAS, yksinkertainen, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterotsygoottinen

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Lisää elatusaineeseen 15 % FBS:ää ja 20 µg/ml ihmisen rekombinanttia insuliinia
Dissociation Reagent	Trypsin-EDTA
Doubling time	46 tuntia
Subculturing	Rutiininomaiseen adherenttiseen soluviljelyyn: Imeytä vanha elatusaine adheesiosoluista ja pese ne PBS:llä jäljellä olevan elatusaineen poistamiseksi. Kun PBS on imetty, lisätään sopiva määrä trypsiini/EDTA-liuosta viljelyastian koon mukaan (esim. 1 ml T25-pulloon, 3 ml T75-pulloon) ja inkuboidaan huoneenlämmössä tai 37 °C:ssa, kunnes solut irtoavat (5-10 minuuttia). Seuraa irtoamista mikroskoopilla ja napauta astiaa tarvittaessa varovasti solujen irrottamiseksi. Kun solut ovat irronneet, lisätään täyttä elatusainetta trypsiinin/EDTA:n inaktivoimiseksi, solut suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensiosta aliquota uuteen kasvatusastiaan, joka sisältää tuoretta elatusainetta. Aseta astia inkubaattoriin, jonka lämpötila on 37 °C ja hiilidioksidipitoisuus 5 %, ja vaihda väliaine 2-3 päivän välein.

Panc 05.04 Solut | 305394

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

Fluid renewal 1-2 kertaa viikossa

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 osmoprotektantteja 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 kuivajäätössä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäätä 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 $300 \times g$: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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Panc 05.04 Solut | 305394

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä 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 tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.