

PANC 08.13 Solut | 305391**Yleisiä tietoja****Description**

PANC 08.13 -solulinja, joka tunnetaan myös nimellä PL9, on adenokarsinoomasta johdettu haimasyöpäsolumalli. Sitä on käytetty tutkimuksissa, joissa on pyritty ymmärtämään genomin variaatioita, kuten alleelien menetystä, homotsygoottisia deleetioita ja laajempaa kromosomien epävakautta. Tämä solulinja on osa laajaa haimasyöpämallien kokonaisuutta, jota käytetään syöpäsolujen somaattisten muutosten analysointiin, erityisesti silloin, kun vastaavia normaaleja kudoksia ei ole saatavilla, mikä tekee siitä ihanteellisen korkean resoluution geneettiseen kartoitukseen.

Tutkimuksessa, jossa hyödynnettiin Affymetrix 100K SNP -mikrosiruja, PANC 08.13 -solulinjaa tutkittiin yhdessä 25 muun haimasyöpäsolulinjan kanssa. Nämä mikrosirut mahdollistivat yksittäisten nukleotidipolymorfismien (SNP:iden) tiheän analyysin ja paljastivat alleelistatuksen koko genomin laajuisesti ilman, että tarvittiin vastaavia normaaleja näytteitä. Tällaiset tutkimukset auttavat tunnistamaan alleelihäviön (LOH), geenideleetioiden ja kromosomien rekombinaatiotapahtumien kriittisiä alueita, joita esiintyy usein haimasyöpäsoluissa.

PANC 08.13:n geneettiseen karakterisointiin sisältyy tyypillisesti haimasyöpään liittyviä ajurigeeneissä esiintyviä yleisiä mutaatioita, kuten KRAS-, TP53-, CDKN2A- ja SMAD4-geeneissä. Nämä geneettiset viat ovat haiman duktaalisen adenokarsinooman tunnusmerkkejä ja vaikuttavat hallitsemattomaan solujen lisääntymiseen, häiriintyneeseen solusyklin säätelyyn sekä puutteellisiin apoptoosimekanismeihin. PANC 08.13:n kaltaisia solulinjoja hyödyntävät tutkimukset mahdollistavat kohdennettujen hoitojen kehittämisen ja uusien terapeuttisten haavoittuvuuksien tunnistamisen haimasyövässä.

Organism

Ihminen

Tissue

Haima

Disease

Adenokarsinooma

Applications

3D-soluviljely, Syöpätutkimus

Synonyms

Panc 8.13, Panc-08.13, PANC-08-13, Panc_08_13, Panc08.13, Panc8.13, Panc-8_13, Panc-813, PANC 813, Panc813, PANC813, PANC0813, Panc0813, Pa14C, PL9, PL-9

Ominaisuudet**Age**

85 vuotta

Gender

Mies

Ethnicity

Kaukasialainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

PANC 08.13 Solut | 305391**Cell type** Epiteelisolu**Growth properties** Tarttuva**Säätelytiedot****Citation** PANC 08.13 (Cytion-tuotenumero 305391)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1638**Biomolekyylitiedot****Antigen expression** MHC-luokka I +; MHC-luokka II -**Oncogenes** K-ras+**Tumorigenic** Kyllä; kyllä nude- tai SCID-hiirillä**Mutational profile** Mutaatio: KRAS, yksinkertainen, p.Gly12Asp (c.35G>A), homotsygoottinen; Mutaatio: SMAD4, yksinkertainen, p.Cys123Metfs*2 (c.366dupA) (c.366_367insA), homotsygoottinen**Käsittely****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Lisää elatusaineeseen 15 % FBS:ää ja 0,01 mg/ml insuliinia**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 20 tuntia

PANC 08.13 Solut | 305391**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 täyttää 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.

Seeding density

$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$

Fluid renewal

2-3 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.

PANC 08.13 Solut | 305391

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, 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 jäädästä 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 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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

PANC 08.13 Solut | 305391

Sterility

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

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