

PSN-1-solut | 305618

Yleisiä tietoja

Description

PSN-1-solulinja on ihmisen haiman adenokarsinooman malli, joka on kehitetty primaarisesta haimakasvaimesta. Se on erityisen merkittävä, koska siinä esiintyy sekä c-myc-onkogeenin amplifikaatioita että c-Ki-ras-geenin amplifikaatioita, joissa on pistemutaatio kodonissa 12. Tässä mutaatioissa glysiini korvautuu arginiinilla (GGT muuttuu CGT:ksi), mikä johtaa c-Ki-ras-geenin aktivoituneeseen muotoon, jolla on transformoiva potentiaali. PSN-1:llä on samat molekyyliset ominaisuudet kuin alkuperäisellä kasvainkudoksella, mukaan lukien c-myc-geenin 50-kertainen amplifikaatio ja mutatoituneen c-Ki-ras-geenin 3–6-kertainen amplifikaatio. Näihin onkogeeneihin amplifikaatioihin liittyy molempien geenien merkittävästi lisääntynyt mRNA-ilmentyminen, mikä viittaa niiden ratkaisevaan rooliin kasvaimen etenemisessä.

PSN-1 johdettiin epätavallisella menetelmällä, jossa pakastettuja kasvainkudoksia, joita oli säilytetty 1,5 vuotta -80 °C:ssa ilman kryosäilytysaineita, siirrettiin onnistuneesti alastomille hiirille. Tuloksena saadusta ksenotransplantaatista perustettiin PSN-1-solulinja, joka osoitti in vitro vakaita onkogeenejä amplifikaatioita, jotka vastasivat alkuperäisessä kasvaimessa ja sen metastaatissa imusolmukkeissa havaittuja amplifikaatioita. Solulinjalla on heterogeeniset kasvun ominaisuudet: solut joko tarttuvat voimakkaasti monokerroksiksi tai kasvavat suspensiossa. Tämä kaksijakoinen käyttäytyminen kuvastaa monimuotoista solupopulaatiota, joka kykenee sopeutumaan erilaisiin viljelyolosuhteisiin.

Organism

Ihminen

Tissue

Haima

Disease

Haiman adenokarsinooma

Applications

3D-soluviljely

Synonyms

PSN1

Ominaisuudet

Age

Määrittelemätön

Gender

Mies

Ethnicity

Itä-Aasia

Morphology

Epiteelin kaltainen

Cell type

Epiteelisolu

Growth properties

Tarttuva

PSN-1-solut | 305618

Säätelytiedot

Citation	PSN-1 (Cytionin tuotenumero 305618)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1644

Biomolekyylitiedot

Mutational profile	Geenipoisto: CDKN2A, homotsygoottinen; Geenipoisto: SMAD4, homotsygoottinen; Mutaatio: KRAS, yksinkertainen, p.Gly12Arg (c.34G>C), heterotsygoottinen; Mutaatio: TP53, yksinkertainen, p.Lys132Gln (c.394A>C), homotsygootti
--------------------	--

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	21 tuntia
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 osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

PSN-1-solut | 305618

**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

PSN-1-solut | 305618

Sterility

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

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