

HPAC sejtek | 305309

Általános információk

Description

A humán hasnyálmirigy ductus adenokarcinómából származó HPAC sejtvonal alapvető modellként szolgál a hasnyálmirigy rák molekuláris és sejtes jellemzőinek tanulmányozásához. A különböző kemoterápiás szerek és jelátviteli útvonalak hatásának értékelésében való hasznosságáról ismert HPAC sejtek a hasnyálmirigy rákra jellemző legfontosabb jellemzőket mutatják, beleértve a rezisztencia mechanizmusokat is. A HPAC-t érintő legújabb tanulmányok a gyógyszerrezisztencia megértésére összpontosítottak, különösen az epidermális növekedési faktor receptort (EGFR) célzó tirozin-kináz inhibitorral, az erlotinibbal szemben. A kutatások kimutatták, hogy a HPAC-sejtek erlotinib rezisztenciája jelentős anyagcsere-változásokkal, például a foszfolipid- és aminosav-anyagcserében bekövetkező változásokkal jár. Konkrétan a rövid szénláncú acilkarnitinek megnövekedett szintjét és a glicerín-foszfolipid profilok változásait az erlotinib-rezisztens HPAC-sejtek emelkedett metabolikus állapotához kapcsolták.

A HPAC-sejtek mátrix metalloproteinázokat (MMP-eket) is expresszálnak, különösen az MT1-MMP-t, ami döntő fontosságú az invazív viselkedésükhöz. A Wnt/ β -katenin jelátviteli útvonal szerepet játszik az MMP-expresszió szabályozásában, hozzájárulva a sejtek migrációs és inváziós potenciáljához. Az olyan vegyületek, mint a matrin alkalmazása a Wnt/ β -katenin jelátvitel elnyomása révén az MT1-MMP downregulálásával gátolja a HPAC sejtek migrációját. Ezek a tulajdonságok kiemelik a HPAC-ot, mint kulcsfontosságú sejtvonalat a hasnyálmirigy rák agresszív és kezelésre rezisztens természetének enyhítését célzó terápiás beavatkozások feltárására.

Organism

Emberi

Tissue

Hasnyálmirigy

Disease

Adenokarcinóma

Synonyms

Hpac

Jellemzők

Age

64 év

Gender

Női

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Epithelszerű

Cell type

Hasnyálmirigy ductus sejt

Growth properties

Adherent

HPAC sejtek | 305309

Szabályozási adatok

Citation	HPAC (Cytion katalógusszám: 305309)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3517

Biomolekuláris adatok

Protein expression	Kifejeződő gének: keratin pozitív, vimentin negatív, kromogranin A negatív Epidermális növekedési faktor (EGF), kifejezett; glükokortikoid, kifejezett; epidermális növekedési faktor (EGF); glükokortikoid
Tumorigenic	Igen, athymikus egerekben
Mutational profile	Mutáció: Glu120Ter (c.358G>T), homozigóta; Mutáció: CDKN2A, p.Glu120Ter (c.358G>T), homozigóta; KRAS, p.Gly12Asp (c.35G>A); Mutáció: KRAS, p.Gly12Asp (c.35G>A); Mutáció: KRAS, p.Gly12Asp (c.35G>A), homogén: TP53

A kezelése

Culture Medium	DMEM:Ham's F12, 1,2 g/L nátrium-bikarbonát, 2,5 mM L-glutamin, 15 mM HEPES, 0,5 mM nátrium-piruvát (0,002 mg/ml inzulin, 0,005 mg/ml transferrin) ITS+, 40 ng/ml hidrokortizon, 10 ng/ml egér epidermális növekedési faktor (Fisher Scientific cat# CB-40010)
Supplements	A táptalajt 5% FBS-szel egészítsük ki
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

HPAC sejtek | 305309

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítjük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

HPAC sejtek | 305309

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.