

PANC 08.13 Sejtek | 305391

Általános információk

Description

A PANC 08.13 sejtvonal – más néven PL9 – egy adenokarcinómából származó hasnyálmirigyrák-sejtmodell. Számos, a genomikus variációk – többek között az allélvesztés, a homozigóta deléciók és az általánosabb kromoszómális instabilitás – megértésére irányuló tanulmányban szerepelt. Ez a sejtvonal egy kiterjedt hasnyálmirigyrák-modellkészlet része, amelyet a ráksejtek szomatikus változásainak elemzésére használnak, különösen akkor, ha nincs megfelelő normál szövet, így ideális a nagy felbontású genetikai térképezéshez.

Egy, az Affymetrix 100K SNP-mikrochipeket felhasználó tanulmányban a PANC 08.13-at 25 másik hasnyálmirigyrák-sejtvonallal együtt vizsgálták. Ezek a mikrochipek lehetővé tették az egy nukleotid polimorfizmusok (SNP-k) nagy sűrűségű elemzését, és feltárták az allélállapotot a genom egészén anélkül, hogy megfelelő normál mintákra lett volna szükség. Az ilyen tanulmányok segítenek azonosítani az allélvesztés (LOH), a géndelációk és a kromoszómális rekombinációs események kritikus régióit, amelyek gyakran fordulnak elő a hasnyálmirigyrákos sejtekben.

A PANC 08.13 genetikai jellemzése magában foglalja a hasnyálmirigyrákkal jellemzően összefüggő hajtó génekben – például a KRAS, TP53, CDKN2A és SMAD4 génekben – előforduló gyakori mutációkat. Ezek a genetikai rendellenességek a hasnyálmirigy-ductális adenokarcinóma jellegzetes jegyei, és hozzájárulnak a kontrollálatlan sejtproliferációhoz, a sejtciklus szabályozásának zavarához, valamint a hibás apoptózis-mechanizmusokhoz. A PANC 08.13-hoz hasonló sejtvonalakat felhasználó tanulmányok lehetővé teszik a célzott terápiák kifejlesztését és új terápiás sebezhetőségek azonosítását a hasnyálmirigyrákban.

Organism

Emberi

Tissue

Hasnyálmirigy

Disease

Adenokarcinóma

Applications

3D sejtkultúra, rákkutatás

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

Jellemzők

Age

85 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Epithelszerű

PANC 08.13 Sejtek | 305391**Cell type** Epithelsejt**Growth properties** Adherent**Szabályozási adatok****Citation** PANC 08.13 (Cytion katalógusszám: 305391)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1638**Biomolekuláris adatok****Antigen expression** MHC I. osztály +; MHC II. osztály –**Oncogenes** K-ras+**Tumorigenic** Igen; Igen, meztelen vagy SCID egerek esetében**Mutational profile** Mutáció: KRAS, egyszerű, p.Gly12Asp (c.35G>A), homozigóta; Mutáció: SMAD4, egyszerű, p.Cys123Metfs*2 (c.366dupA) (c.366_367insA), homozigóta**A kezelése****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)**Supplements** A tápközeget egészítsük ki 15%-os FBS-sel és 0,01 mg/ml inzulinval**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 20 óra

PANC 08.13 Sejtek | 305391**Subculturing**

Rutinszerű adherens sejtkultúrához: Szívja le a régi táptalajt az adherens sejtekről, és mossa le őket PBS-szel a maradék táptalaj eltávolítása érdekében. A PBS leszívása után adjunk hozzá a tenyésztőedény méretének megfelelő mennyiségű tripszin/EDTA-oldatot (pl. 1 ml T25 lombikhoz, 3 ml T75 lombikhoz), és inkubáljuk szobahőmérsékleten vagy 37°C-on, amíg a sejtek leválnak (5-10 perc). Ellenőrizzük a leválást mikroszkóp alatt, és ha szükséges, óvatosan kopogtassuk meg az edényt a sejtek kiszabadításához. Ha a sejtek leváltak, adjunk hozzá teljes tápfolyadékot a tripszin/EDTA inaktiválásához, óvatosan szuszpendáljuk újra a sejteket, és a sejtsuszpenzió egy aliquotáját helyezzük át egy új, friss tápfolyadékot tartalmazó tenyésztőedénybe. Helyezze az edényt 37 °C-ra és 5%_{CO2-ra} beállított inkubátorba, és 2-3 naponta cserélje a tápfolyadékot.

Seeding density

1–3 × 10⁴/cm²

Fluid renewal

hetente 2-3 alkalommal

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás 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.

PANC 08.13 Sejtek | 305391

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 fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuspenziót 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 sejtpelletet 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 sejtkölcsönhatás 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.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat 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 és molekuláris elemzés

PANC 08.13 Sejtek | 305391

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.