

HPAC šūnas | 305309

Vispārīga informācija

Description

HPAC šūnu līnija, kas iegūta no cilvēka aizkuņģa dziedzera duktālās adenokarcinomas, kalpo kā būtisks modelis aizkuņģa dziedzera vēža molekulāro un šūnu īpašību izpētei. HPAC šūnas ir pazīstamas ar to lietderību dažādu ķīmijterapeitisko līdzekļu un signalizācijas ceļu ietekmes novērtēšanā, un tām piemīt galvenās aizkuņģa dziedzera vēzim raksturīgās īpašības, tostarp rezistences mehānismi. Nesen veiktajos HPAC pētījumos galvenā uzmanība ir pievērsta zāļu rezistences izpratnei, jo īpaši pret erlotinibu - tirozīnkināzes inhibitoru, kas ir vērsts pret epidermālā augšanas faktora receptoru (EGFR). Pētījumos ir pierādīts, ka rezistence pret erlotinibu HPAC šūnās ir saistīta ar būtiskām metabolisma izmaiņām, piemēram, fosfolipīdu un aminoskābju metabolisma izmaiņām. Konkrēti, paaugstināts īso ķēžu acilkarnitīnu līmenis un izmaiņas glicerofosfolipīdu profilos ir saistītas ar paaugstinātu metabolisma stāvokli erlotinibam rezistentās HPAC šūnās.

HPAC šūnas arī ekspresē matricas metaloproteināzes (MMP), jo īpaši MT1-MMP, kas ir izšķirošs faktors to invāzīvai uzvedībai. Wnt/ β -katinīna signalizācijas ceļš ir iesaistīts MMP ekspresijas regulēšanā, veicinot šūnu migrācijas un invāzijas potenciālu. Ir pierādīts, ka, izmantojot tādus savienojumus kā matrīns, tiek kavēta HPAC šūnu migrācija, samazinot MT1-MMP, nomācot Wnt/ β -katinīna signalizāciju. Šīs īpašības liecina, ka HPAC ir galvenā šūnu līnija, lai pētītu terapeitiskās iejaukšanās, kuru mērķis ir mazināt aizkuņģa dziedzera vēža agresivitāti un rezistenci pret ārstēšanu.

Organism

Cilvēks

Tissue

Aizkuņģa dziedzeris

Disease

Adenokarcinoma

Synonyms

Hpac

Raksturojums

Age

64 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Epitēlijveidīgs

Cell type

Aizkuņģa dziedzera duktālās šūnas

Growth properties

Adherent

HPAC šūnas | 305309

Normatīvie dati

Citation	HPAC (Cytion kataloga numurs 305309)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3517

Biomolekulārie dati

Protein expression	Ekspresētie gēni: keratīns pozitīvs, vimentīns negatīvs, hromogranīns A negatīvs Epidermālais augšanas faktors (EGF), izteikts; glikokortikoīds, izteikts; epidermālais augšanas faktors (EGF); glikokortikoīds
Tumorigenic	Jā, atimiskām pelēm
Mutational profile	Mutācija: CDKN2A, p.Glu120Ter (c.358G>T), homozigotiska; mutācija: KRAS, p.Gly12Asp (c.35G>A); mutācija: TP53

Darbs ar

Culture Medium	DMEM: Ham's F12, 1,2 g/l nātrija bikarbonāts, 2,5 mM L-glutamīns, 15 mM HEPES, 0,5 mM nātrija piruvāts (0,002 mg/ml insulīna, 0,005 mg/ml transferīna) ITS+, 40 ng/ml hidroktizona, 10 ng/ml peles epidermālā augšanas faktora (Fisher Scientific cat# CB-40010)
Supplements	Papildināt barotni ar 5% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā

HPAC šūnas | 305309

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HPAC šūnas | 305309

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.