

PSN-1 šūnas | 305618

Vispārīga informācija

Description

PSN-1 šūnu līnija ir cilvēka aizkuņģa dziedzera adenokarcinomas modelis, kas izveidots no primārā aizkuņģa dziedzera audzēja. Tā ir īpaši ievērojama ar to, ka tajā ir gan c-myc onkogēna, gan c-Ki-ras gēna amplifikācijas ar punktmutāciju 12. kodonā. Šī mutācija aizstāj glicīnu ar arginīnu (GGT ar CGT), izraisot c-Ki-ras aktivēto formu ar transformējošu potenciālu. PSN-1 saglabā tās pašas molekulārās īpašības kā sākotnējais audzēja augs, tostarp 50 reizes palielinātu c-myc ekspresiju un 3–6 reizes palielinātu mutētā c-Ki-ras ekspresiju. Šīs onkogēnās amplifikācijas pavada ievērojami paaugstināta abu gēnu mRNA ekspresija, kas liecina par to izšķirošo lomu audzēja progresēšanā.

PSN-1 tika iegūta, izmantojot netradicionālu procesu, kurā sasaldēti audzēja audi, kas 1,5 gadus bija uzglabāti -80 °C temperatūrā bez krioprezervācijas līdzekļiem, tika veiksmīgi transplantēti kailpeles pelēm. No iegūtā ksenotransplantāta tika izveidota PSN-1 šūnu līnija, kurai in vitro tika konstatētas stabilas onkogēnās amplifikācijas, kas atspoguļoja tās, kas tika atrastas sākotnējā audzējā un tā metastāzēs limfmezglos. Šī šūnu līnija izrāda heterogēnas augšanas īpašības — šūnas vai nu stingri piestiprinās kā monoslāņi, vai aug suspensijā. Šī divkāršā uzvedība atspoguļo daudzveidīgu šūnu populāciju, kas spēj pielāgoties dažādiem kultivēšanas apstākļiem.

Organism

Cilvēks

Tissue

Aizkuņģa dziedzeris

Disease

Aizkuņģa dziedzera adenokarcinoma

Applications

3D šūnu kultūras

Synonyms

PSN1

Raksturojums

Age

Nav norādīts

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Austrumāzijas

Morphology

Epitēlijsveidīgs

Cell type

Epitēlija šūna

Growth properties

Adherent

PSN-1 šūnas | 305618

Normatīvie dati

Citation	PSN-1 (Cytion kataloga numurs 305618)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1644

Biomolekulārie dati

Mutational profile	Gēna delecija: CDKN2A, homozigota; Gēna delecija: SMAD4, homozigota; Mutācija: KRAS, vienkārša, p.Gly12Arg (c.34G>C), heterozigota; Mutācija: TP53, vienkārša, p.Lys132Gln (c.394A>C), homozigota
--------------------	---

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% termiski inaktivētu FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	21 stunda
Seeding density	1–3 × 10 ⁴ /cm ²
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
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.

PSN-1 šūnas | 305618

**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 °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 x 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.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma 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 starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

PSN-1 šūnas | 305618

Sterility

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

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