

HPAC-celler | 305309

Generell informasjon

Description

HPAC-cellelinjen, som stammer fra humant duktalt adenokarsinom i bukspyttkjertelen, er en viktig modell for å studere molekylære og cellulære egenskaper ved bukspyttkjertelkreft. HPAC-celler er kjent for å være velegnet til å evaluere effekten av ulike kjemoterapeutiske midler og signalveier, og de har viktige egenskaper som er typiske for kreft i bukspyttkjertelen, inkludert resistensmekanismer. Nyere studier med HPAC har fokusert på å forstå resistens mot legemidler, særlig mot erlotinib, en tyrosinkinasehemmer som er rettet mot den epidermale vekstfaktorreseptoren (EGFR). Forskning har vist at resistens mot erlotinib i HPAC-celler er forbundet med betydelige metabolske endringer, som for eksempel endringer i fosfolipid- og aminosyremetabolismen. Spesielt har økte nivåer av kortkjedede acylkarnitiner og endringer i glyserofosfolipidprofiler blitt knyttet til en forhøyet metabolsk tilstand i erlotinib-resistente HPAC-celler.

HPAC-celler uttrykker også matriksmetalloproteinaser (MMP-er), særlig MT1-MMP, som er avgjørende for deres invasive atferd. Wnt/ β -catenin-signalveien har vist seg å være involvert i reguleringen av MMP-uttrykk, noe som bidrar til cellenes migrasjons- og invasjonspotensial. Bruk av stoffer som matrin har vist seg å hemme HPAC-cellers migrasjon ved å nedregulere MT1-MMP gjennom undertrykkelse av Wnt/ β -catenin-signaler. Disse egenskapene gjør HPAC til en viktig cellelinje for utforskning av terapeutiske intervensjoner som kan redusere bukspyttkjertelkrefts aggressive og behandlingsresistente natur.

Organism

Menneskelig

Tissue

Bukspyttkjertelen

Disease

Adenokarsinom

Synonyms

Hpac

Kjennetegn

Age

64 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Epitel-lignende

Cell type

Pankreatisk duktal celle

Growth properties

Vedhengende

HPAC-celler | 305309

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

Protein expression	Gener uttrykt: keratin positiv, vimentin negativ, kromogranin A negativ Epidermal vekstfaktor (EGF), uttrykt; glukokortikoid, uttrykt; epidermal vekstfaktor (EGF); glukokortikoid
Tumorigenic	Ja, i athymiske mus
Mutational profile	Mutasjon: CDKN2A, p.Glu120Ter (c.358G>T), homozygot; Mutasjon: KRAS, p.Gly12Asp (c.35G>A); Mutasjon: TP53

Håndtering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12, 1,2 g/L natriumbikarbonat, 2,5 mM L-glutamin, 15 mM HEPES, 0,5 mM natriumpyruvat (0,002 mg/ml insulin, 0,005 mg/ml transferrin) ITS+, 40 ng/ml hydrokortison, 10 ng/ml epidermal vekstfaktor for mus (Fisher Scientific cat# CB-40010)
Supplements	Suppler mediet med 5 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:3 til 1:6 anbefales

HPAC-celler | 305309

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobybeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HPAC-celler | 305309

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.