

Bunky CFPAC-1 | 305066**Všeobecné informácie****Description**

Bunky CFPAC-1, získané od 26-ročného muža s cystickou fibrózou a metastázami ductálneho adenokarcinómu pečene, sú hyperdiploidnou bunkovou líniou s pozoruhodnými vlastnosťami pre biologický výskum. Ich aderenčná rastová vlastnosť a schopnosť nádorového bujnenia na nahých myšiach z nich robia praktický model na štúdie rakoviny in vitro. Karyotyp bunkovej línie obsahuje modálny počet 73 chromozómov s niekoľkými translokáciami, a čo je dôležité, dve až tri kópie chromozómu 7, kde sa nachádza gén cystickej fibrózy.

Tieto bunky exprimujú antigény a gény súvisiace s rakovinou, ako napríklad CA19-9, karcinoembryonálny antigén (CEA), pankreatický onkofetálny antigén (POA), antigén spojený s adenokarcinómom (ACAA) a epiteliálne keratíny, čo ponúka pohľad na biológiu rakoviny. Pokiaľ ide o patológiu cystickej fibrózy, bunky CFPAC-1 vykazujú jedinečné aktivity v oblasti transportu iónov. Nereagujú na agonistov cAMP, stimulatory adenylcyklázy alebo inhibitory fosfodiesterázy pre tok chloridových iónov, ale vykazujú zvýšený výtok chloridov v reakcii na vápnikové ionofory.

Bunky CFPAC-1 nesú bežnú mutáciu cystickej fibrózy - deléciu troch nukleotidov vedúcu k absencii fenylalanínu na pozícii 508 v géne CFTR. Z morfológického hľadiska vykazujú epitelové znaky s apikálnymi mikrokľky, tesnými spojmi a medzerovitými spojmi, ktoré sú dôležité na štúdium interakcií epitelových tkanív pri rakovine aj cystickej fibróze.

Organism Ľudské**Tissue** Pankreas**Disease** Cystická fibróza, adenokarcinóm pankreasu**Metastatic site** Pečeň**Synonyms** CFPac-1, CF PAC-1, CF-PAC1, CF-Pac1, CF Pac1, CFPAC1, CFPac1, CFPac1, CFPAC**Charakteristika****Age** 26 rokov**Gender** Muži**Ethnicity** Európska**Morphology** Epitelové**Growth properties** Adherent

Bunky CFPAC-1 | 305066**Regulačné údaje**

Citation	CFPAC-1 (katalógové číslo Cytion 305066)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1119

Biomolekulárne údaje

Protein expression	Karcinoembryonálny antigén (Cea), 9Ng/ml, pankreatický onkofetálny antigén (Poa), 28Ng/ml, adenokarcinómový antigén (Acaa), 5000Ng/ml, antigén Ca 19-9, 12000 jednotiek/ml, epitelové keratíny
Antigen expression	CA19-9 antigén, 12000 jednotiek/ml, epitelové keratíny
Tumorigenic	Áno

Spracovanie

Culture Medium	IMDM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM pyruvátu sodného, w: 3,024 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820800a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne

Bunky CFPAC-1 | 305066

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky CFPAC-1 | 305066

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.