

PANC02 小鼠胰腺癌细胞

一、细胞简介

货号	YFX-CLM072
背景描述	Panc02 细胞系是一种广泛用于研究胰腺导管腺癌 (PDAC) 的鼠类模型, 这是最常见的和最具有侵袭性的胰腺癌形式。Panc02 细胞最初是从 C57BL/6 小鼠中化学诱导的胰腺肿瘤中衍生出来的。这个细胞系在临床前研究中非常重要, 因为它可以原位植入同基因小鼠体内, 模拟自然肿瘤环境, 并提供对 PDAC 免疫反应和治疗抵抗机制的见解。使用 Panc02 的研究为 PDAC 的免疫抑制微环境提供了重要的见解。一项研究表明, Panc02 肿瘤被大量调节性 T 细胞 (Tregs) 浸润, 这些 Tregs 抑制了抗肿瘤免疫反应。研究发现, 低剂量吉西他滨治疗可以特异性地耗竭 Panc02 肿瘤携带小鼠中的 Tregs, 导致抗肿瘤免疫反应增强和生存率适度提高。这表明免疫调节可能是 PDAC 的一种有前景的治疗策略。除了免疫治疗研究外, Panc02 还被用来研究程序性细胞死亡的一种形式——坏死性凋亡。在 Panc02 细胞中抑制 Aurora 激酶 A 已被证明可以诱导坏死性凋亡, 这对于克服 PDAC 中对凋亡的抵抗非常重要。这提供了一种潜在的治疗方法, 通过促进非凋亡性细胞死亡途径来靶向凋亡抵抗的癌细胞。
细胞形态	上皮细胞样, 贴壁生长。
规格	>1 × 10 ⁶ cells, T25 瓶或者 1mL 冻存管包装。
细胞来源	小鼠胰腺组织。
培养基	RPMI-1640+ 10% FBS+ 1% P/S。
培养条件	气相: 空气, 95%; 二氧化碳, 5%; 温度: 37°C; 培养箱湿度为 70%-80%。
细胞检测	不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。
传代比例	1:2-1:5; 第一次收到细胞建议 T25 培养瓶 1: 2 传代。
换液频率	1-2 天。
细胞冻存液	无血清冻存液。

二、细胞收到后处理方式

- 收到细胞后, 75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37°C 培养箱放置约 2-3h, 若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染, 请拍照后及时联系我们。
- 请在 4 或 5×显微镜下确认细胞状态, 同时给刚收到的细胞拍照 (10×, 20×) 各 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存, 作为售后时收到时细胞状态的依据。
- 贴壁细胞: 细胞在 37°C 培养箱中放置 2-3h, 显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况, 有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在 60%以下, 可去除培养瓶中灌液培养基 (若有未贴壁的细胞需要离心回收, 重悬打入到原培养瓶中), 加入新配制的完全培养基 6-8mL, 放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达 70%-80%以上, 可以对细胞进行传代处理。传代过程中, 若因运输振动脱落的细胞需要离心回收。

4、备注: 运输用的培养基不能再用来培养细胞, 请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。收到细胞后第一次传代建议 T25 培养瓶 1: 2 传代。

三、细胞传代 (建议一传二)

对于贴壁细胞传代可以参考以下方法:

- 1、在生物安全柜内, 打开培养瓶瓶口, 吸弃瓶内的培养基。
- 2、向培养瓶内加入 3mL 无菌的 $1 \times$ PBS, 水平放置培养瓶, 使 PBS 能够浸润到培养瓶底面上所有的面积, 吸弃 PBS。
- 3、向瓶内加入 1mL 0.25% 胰蛋白酶 (含 EDTA), 浸润底面后放入 37°C CO_2 培养箱中孵育 1~2min。
- 4、孵育完成后在倒置显微镜下观察细胞是否变圆飘起, 若全部消化下来则直接向培养瓶内加入 2mL 完全培养基中, 将悬液吸入 15mL 离心管。

注: 如细胞不能一次性完全消化, 可采取如下方法:

- A. 准备一个无菌的 15mL 离心管, 加入 2mL 完全培养基。
- B. 将消化下来的细胞加入到上述离心管中。
- C. 向之前消化的培养瓶中加入 1mL 胰酶继续消化 2min 左右, 轻拍培养瓶, 95%左右细胞脱落后加入 2mL 含 10%FBS 的完全培养基中和, 中和后的细胞悬液移入 A 中的离心管内。

四、细胞冻存

收到细胞后建议在培养前 3 代时冻存一批细胞种子以备后续实验使用。下面 T25 瓶为例:

- 1、选择指数生长期的细胞, 吸去培养液, 加 PBS 清洗 1-2 遍。去 PBS, 加入 0.25% 胰酶 1.5mL 润洗 10 秒, 去胰酶。将培养瓶放 37°C 培养箱, 靠残余胰酶继续消化细胞直至细胞变圆, 拍打瓶侧使细胞脱落。细胞消化下来后, 加 5mL 培养液全部吹打下来, 再 1000RPM 离心 3 分钟。
- 2、加入 1-1.5mL 成品冻存液, 分装至 2mL 冻存管里, 将冻存管放入充满异丙醇的程序降温盒中, 之后转入 -80°C 冰箱过夜, 第二天再转至液氮。

五、细胞复苏

- 1、将恒温水浴锅中的水预热到 37°C 。
- 2、准备一支 15mL 离心管, 加入 5mL 完全培养基, 放入 37°C 水浴锅中预热。
- 3、戴上护目镜, 厚毛线手套后, 从液氮罐中取出要复苏的细胞, 尽快转入 37°C 恒温水浴锅中复温晃动冻存管以提高复温速率。
- 4、将融化了的冻存管中的细胞吸入事先准备的离心管中, 混匀后, 1000rpm 离心 5min。
- 5、准备一个 T-25 培养瓶, 写上细胞名称、日期, 再加入 4mL 完全培养基。
- 6、离心完成后弃去上清, 用 1mL 完全培养基重悬细胞后, 转入 T-25 细胞培养中, 混匀后转入 CO_2 培养箱中培养静置。

六、运输和保存

- 1、T25 瓶复苏的存活细胞常温发货, 收到细胞后请镜下观察细胞生长状态, 如铺瓶率超过 85%请立即进行传代操作。
- 2、1mL 冻存细胞悬液装于 1.8mL 的冻存管中, 置于装满干冰的泡沫保温盒中进行运输; 收到细胞后请尽快解冻复苏细胞进行培养, 如无法立刻进行复苏操作, 冻存细胞可在 -80°C 的条件下保存 1 个月。

七、注意事项

- 1、所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性, 必须在二级生物安全台内操作, 并注意防护, 所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。
- 2、从液氮中取出细胞冻存管时, 若冻存管内有液氮进入, 需拧松冻存管, 排出内部残留的液氮, 之后拧紧冻存管, 置于干冰上, 然后放入 37°C 水浴中, 避免温差太大造成液氮快速气化而爆炸。