

PC-9 rakud | 305045

Üldine teave

Description

PC-9 rakuliin on saadud inimese kopsu adenokartsinoomist, mis on mitteväikerakk-kopsuvähi alatüüp. See rakuliin on eriti tähelepanuväärne selle poolest, et sellel on EGFR-geeni aktiveeriv mutatsioon, täpsemalt 19. eksoni deletioon (E746_A750del), mis on NSCLC puhul tavaline juhtmutatsioon. See muudatus muudab PC-9 hindamatuks mudeliks EGFR-juhitava vähi bioloogia uurimiseks ja selliste türosiinkinaasi inhibiitorite (TKI) nagu gefitiniib ja erlotiniib, mis on spetsiaalselt suunatud sellele ahelale, tõhususe hindamiseks.

PC-9 rakke on laialdaselt kasutatud EGFR TKI-de suhtes resistentsuse mehhanismide, eelkõige selliste sekundaarsete mutatsioonide nagu T790M tekkimise uurimisel. Nende uuringute põhjal on välja töötatud kolmanda põlvkonna inhibiitorid, nagu osimertiniib, mis on suunatud nii EGFR-i esmase mutatsiooni kui ka resistentsusega seotud muutuste vastu. Rakuliin on tundlik ka teiste inhibiitorite suhtes, mis on suunatud allavoolu signaaliradadele, sealhulgas PI3K/AKT ja MAPK signaalkaskaadides osalevatele inhibiitoritele, mis rõhutab selle kasulikkust translatsioonilistes vähiuuringutes.

Lisaks oma geneetilistele ja farmakoloogilistele omadustele on PC-9 lülitatud kõrge läbilaskevõimega ravimite sõelumisprogrammidesse, mis hõlbustab EGFR-mutatsiooniga NSCLC suhtes selektiivse toimega ühendite tuvastamist. Selle liini hästi iseloomustatud genoomiline maastik ja järjepidev fenotüüpiline käitumine in vitro muudavad selle nii põhi- kui ka rakenduslike kopsuvähiuuringute nurgakiviks, eriti sihitud ja kombineeritud ravi kontekstis.

Organism Inimene

Tissue Kopsud

Disease Kopsu adenokartsinoom

Metastatic site Lümfisõlm

Synonyms PC9, PC-9/S1, PC-9S1

Omadused

Age 45 aastat

Gender Mees

Morphology Ümarate rakkude ja spindlikujuliste rakkude heterogeenne segu

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

PC-9 rakud | 305045

Citation PC-9 (Cytioni katalooginumber 305045)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_B260

Biomolekulaarsed andmed

Tumorigenic Jah

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Koguge suspensioonirakud 15 ml tuubi ja peske kleepunud rakud ettevaatlikult PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium (kasutage 3-5 ml T25 kolbide puhul ja 5-10 ml T75 kolbide puhul). Kandke Accutase'i (1-2 ml T25 kolvidesse, 2,5 ml T75 kolvidesse), tagades rakukihi täieliku katvuse. Laske rakkudel inkubeerida 37 °C juures 10-15 minutit. Pärast inkubeerimist ühendage ja tsentrifugeerige nii suspensioon kui ka adherentsed rakud. Pärast tsentrifugeerimist resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult ja kandke rakususpensioon uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötmeainet.

Split ratio 01:08

Fluid renewal 1 kuni 2 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

PC-9 rakud | 305045

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

PC-9 rakud | 305045

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.