

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 deleetioon (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 Kinni jääv/suspensioon

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.