

PC-9-solut | 305045

Yleisiä tietoja

Description

PC-9-solulinja on peräisin ihmisen keuhkojen adenokarsinoomasta, joka on ei-pienisoluisen keuhkosyövän (NSCLC) alatyyppejä. Tämä solulinja on erityisen tunnettu siitä, että siinä on EGFR-geenin aktivoiva mutaatio, erityisesti eksoni 19:n deleetio (E746_A750del), joka on yleinen ajomutaatio NSCLC:ssä. Tämä muutos tekee PC-9:stä korvaamattoman arvokkaan mallin EGFR:n aiheuttamien syöpien biologian tutkimiseen ja erityisesti tähän reittiin kohdistuvien tyrosiinikinaasi-inhibiittoreiden (TKI), kuten gefitinibin ja erlotinibin, tehokkuuden arviointiin.

PC-9-soluja on käytetty laajalti tutkimuksessa, jossa on keskitytty EGFR TKI:iden resistenssimekanismeihin, erityisesti T790M:n kaltaisten sekundaaristen mutaatioiden syntyyn. Näiden tutkimusten perusteella on kehitetty kolmannen sukupolven estäjiä, kuten osimertinibiä, jotka kohdistuvat sekä primaariseen EGFR-mutaatioon että resistenssiin liittyviin muutoksiin. Solulinja on myös herkkä muille inhibiittoreille, jotka kohdistuvat myöhempään signaalireitteihin, kuten PI3K/AKT- ja MAPK-signaalintiekkaskadeihin, mikä korostaa sen hyödyllisyyttä translaatiotutkimuksessa.

Geneettisten ja farmakologisten ominaisuuksiensa lisäksi PC-9 on sisällytetty korkean läpimenon lääkeseulontaohjelmiin, mikä helpottaa sellaisten yhdisteiden tunnistamista, joilla on selektiivistä vaikutusta EGFR-mutaatiota omaavaan NSCLC:hen. Linjan hyvin karakterisoitu genominen maisema ja johdonmukainen fenotyyppinen käyttäytyminen in vitro tekevät siitä kulmakiven sekä perus- että soveltavassa keuhkosyöpätutkimuksessa, erityisesti kohdennetun ja yhdistelmähoiton yhteydessä.

Organism	Ihminen
Tissue	Keuhkot
Disease	Keuhkojen adenokarsinooma
Metastatic site	Imusolmuke
Synonyms	PC9, PC-9/S1, PC-9S1, PC-9S1

Ominaisuudet

Age	45 vuotta
Gender	Mies
Morphology	Pyöreiden solujen ja karanmuotoisten solujen heterogeeninen sekoitus
Growth properties	Tarttuva

PC-9-solut | 305045

Säätelytiedot

Citation	PC-9 (Cytionin luettelonumero 305045)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B260

Biomolekyyli tiedot

Tumorigenic	Kyllä
--------------------	-------

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Kerää suspensiosolut 15 ml:n putkeen ja pese kiinni olevat solut varovasti PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia (3-5 ml T25-pulloissa ja 5-10 ml T75-pulloissa). Levitä Accutasea (1-2 ml T25-pulloihin, 2,5 ml T75-pulloihin) varmistaen, että solukerros peittyy kokonaan. Anna solujen inkuboitua 37 °C:ssa 10-15 minuuttia. Inkuboinnin jälkeen yhdistetään ja sentrifugoidaan sekä suspensio että adherentit solut. Sentrifugoinnin jälkeen solupelletti suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensio uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta väliaineita.
Split ratio	01:08
Fluid renewal	1-2 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediaan käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

PC-9-solut | 305045

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

PC-9-solut | 305045

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.