

Клетки HCC827-Luc | 305670

Обща информация

Description

HCC827-Luc е биолуминесцентен вариант на човешката клетъчна линия HCC827 за белодробен аденокарцином, модифицирана така, че стабилно да експресира репортерния ген на луциферазата на светулката. Първоначалната клетъчна линия HCC827 е създадена от белодробен аденокарцином и се отличава с наличието на активираща делеция в екзон 19 на EGFR (del E746-A750), която придава висока чувствителност към инхибитори на EGFR тирозин киназа (TKI) като гефитиниб, ерлотиниб и осимертиниб. Поради това HCC827 е един от най-широко използваните предклинични модели за изучаване на биологията на белодробния рак, предизвикан от EGFR, механизмите на придобитата резистентност към TKI и ефикасността на целевите терапии от ново поколение.

Стабилната интеграция на луцифераза в HCC827-Luc позволява чувствително, количествено биолуминесцентно изобразяване (BLI) на туморното натоварване в модели на ксенографи и ортотопични белодробни тумори при имунокомпрометирани приемници. Излъчваният луминесцентен сигнал корелира с броя на жизнеспособните туморни клетки, което позволява неинвазивно проследяване във времето на приживяването на тумора, кинетиката на растежа, разпространението на метастазите и терапевтичния отговор. Това прави HCC827-Luc особено подходящ за оценка на ефикасността на средствата, насочени към EGFR, комбинираните терапии и стратегиите за преодоляване на резистентността в предклинични *in vivo* условия.

HCC827-Luc запазва ключовите молекулярни и фенотипни характеристики на родителската линия HCC827, включително статуса на делеция на екзон 19 на EGFR и чувствителността към одобрени EGFR инхибитори. Модификацията с луцифераза значително повишава експерименталната чувствителност и производителността, като позволява фармакодинамични оценки в реално време и улеснява както скрининга на лекарства с висока производителност, така и механистичните изследвания на биологията на EGFR пътя. Изследователите трябва да проверят активността на луциферазата, статуса на EGFR мутацията и кинетиката на растежа при своите специфични експериментални условия, преди да я използват в количествени образни изследвания или фармакологични проучвания.

Organism

Човек

Tissue

Бял дроб

Disease

Белодробен аденокарцином

Характеристики

Age

39 години

Gender

Жена

Ethnicity

Азиатски

Morphology

Епителиален

Клетки HCC827-Luc | 305670

Growth properties

Придържащи се

Регулаторни данни

Citation

HCC827-Luc (каталожен номер на Cytion 305670)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_2063

GMO Status

GMO-S1: Тази клетъчна линия съдържа стабилно интегрирана репортерна касета с луцифераза от светулка (Luc2, кодон-оптимизирана), въведена чрез репликационно-некомпетентна лентивирусна трансдукция. Получената поликлонална клетъчна популация се поддържа при селекция с пурамицин (1–5 µg/mL). Необходимо е ниво на биологична безопасност S1. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Antigen expression

Luc2 (светулка, с оптимизирани кодони)

Работа с

Culture Medium

RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)

Supplements

Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase – 10 минути при 37 °C

Subculturing

Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Split ratio

от 1 до 3

Клетки HCC827-Luc | 305670

Seeding density 1 до 3×10^4 клетки/ cm^2

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна хранителна среда + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $200 \times g$ в продължение на 5 минути, внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща средата за замразяване.
7. Следвайте процедурата, описана в раздел "Възстановяване след размразяване"

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HCC827-Luc | 305670

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ