

Клетки NCI-N87-Luc | 305695

Обща информация

Description

NCI-N87-Luc е биолуминесцентен вариант на човешката клетъчна линия NCI-N87 на стомашен аденокарцином, модифицирана така, че да експресира стабилно репортерния ген на луциферазата на светулката. Първоначалната клетъчна линия NCI-N87 е създадена от чернодробна метастаза на тубуларен аденокарцином на стомаха при мъж от африкански произход и се характеризира с амплификация на гена HER2 (ERBB2) и свръхекспресия на протеина, което я превръща в един от основните предклинични модели за HER2-позитивен рак на стомаха. Клетките NCI-N87 притежават епителна морфология и се използват широко за оценка на ефикасността на терапиите, насочени към HER2, включително трастузумаб, пертузумаб и трастузумаб-емтансин (T-DM1).

Стабилната интеграция на луцифераза в NCI-N87-Luc позволява чувствително, неинвазивно биолуминесцентно изобразяване (BLI) на туморното натоварване в подкожни и ортотопични модели на ксенографи при имунокомпрометирани приемници. Луминесцентният сигнал корелира с броя на жизнеспособните туморни клетки, което подпомага проследяването във времето на приживяването на тумора, кинетиката на растежа и отговора към средства, насочени към HER2, или към химиотерапевтични средства. NCI-N87-Luc е особено ценен за предклинична оценка на конюгати на антитела и лекарства (ADC), биспецифични антитела и нови стратегии, насочени към HER2, при рак на стомаха, както и за приложения за скрининг на лекарства с висока производителност.

NCI-N87-Luc запазва молекулярния фенотип с амплификация на HER2 и характеристиките на адхезивен растеж на родителската линия NCI-N87. Луциферазният репортер повишава експерименталната производителност и чувствителността при изследвания с визуализация *in vivo*. Изследователите трябва да потвърдят активността на луциферазата, статуса на експресията на HER2 и кинетиката на растежа при своите специфични експериментални условия, преди да използват клетката в количествени образни или фармакологични изследвания.

Organism

Човек

Tissue

Стомахът

Disease

Тубулен аденокарцином на стомаха

Metastatic site

Черен дроб

Synonyms

NCI-N87, NCI N87, N-87, NCI-H87, H87, H-87, NCIN87

Характеристики

Age

Неуточнена възраст

Gender

Мъжки

Ethnicity

Африкански

Клетки NCI-N87-Luc | 305695

Morphology Епителиален**Growth properties** Придържащи се

Регулаторни данни

Citation NCI-N87-Luc (каталожен номер на Cytion 305695)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1603

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)**Tumorigenic** Да

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** Добавете към средата 10 % FBS, 10 mM HEPES, 2,5 g/L глюкоза, 1 mM натриев пируват**Dissociation Reagent** Accutase – 10 минути при 37 °C

Клетки NCI-N87-Luc | 305695

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 ресуспендирайте, 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

Seeding density 2 до 4×10^4 клетки/cm²

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 x g в продължение на 5 минути, внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща средата за замразяване.
7. Следвайте процедурата, описана в раздел "Възстановяване след размразяване"

Клетки NCI-N87-Luc | 305695

**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.

**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