

Buňky HCC827-Luc | 305670

Obecné informace

Description

HCC827-Luc je bioluminiscenční derivát lidské buněčné linie HCC827 pocházející z adenokarcinomu plic, který byl geneticky upraven tak, aby stabilně exprimoval reportérový gen luciferázy světlušky. Původní buněčná linie HCC827 byla izolována z adenokarcinomu plic a vyznačuje se přítomností aktivující delecí v exonu 19 genu EGFR (del E746-A750), která jí propůjčuje vysokou citlivost na inhibitory tyrozinkinázy EGFR (TKI), jako jsou gefitinib, erlotinib a osimertinib. HCC827 je proto jedním z nejčastěji používaných předklinických modelů pro studium biologie rakoviny plic řízené EGFR, mechanismů získané rezistence vůči TKI a účinnosti cílených terapií nové generace.

Stabilní integrace luciferázy v HCC827-Luc umožňuje citlivé, kvantitativní bioluminiscenční zobrazování (BLI) nádorové zátěže v modelech xenotransplantátů a ortotopických plicních nádorů u imunokompromitovaných hostitelů. Vysílaný luminiscenční signál koreluje s počtem životaschopných nádorových buněk, což umožňuje neinvazivní longitudinální sledování příhojení nádoru, kinetiky růstu, šíření metastáz a terapeutické odezvy. Díky tomu je linie HCC827-Luc obzvláště vhodná pro hodnocení účinnosti látek zaměřených na EGFR, kombinovaných terapií a strategií zvrácení rezistence v předklinických in vivo podmínkách.

HCC827-Luc si zachovává klíčové molekulární a fenotypové vlastnosti mateřské linie HCC827, včetně statusu delecí exonu 19 EGFR a citlivosti na schválené inhibitory EGFR. Modifikace luciferázou podstatně zvyšuje experimentální citlivost a propustnost, což umožňuje farmakodynamická hodnocení v reálném čase a usnadňuje jak vysoce propustný screening léčiv, tak mechanistické výzkumy biologie signální dráhy EGFR. Výzkumníci by měli před použitím v kvantitativním zobrazování nebo farmakologických studiích ověřit aktivitu luciferázy, stav mutace EGFR a růstovou kinetiku za svých specifických experimentálních podmínek.

Organism

Člověk

Tissue

Plíce

Disease

Adenokarcinom plic

Charakteristika

Age

39 let

Gender

Ženy

Ethnicity

Asijské

Morphology

Epitelové

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Buňky HCC827-Luc | 305670

Citation	HCC827-Luc (katalogové číslo Cytion 305670)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2063
GMO Status	GMO-S1: Tato buněčná linie obsahuje stabilně integrovanou reportérovou kazetu s luciferázou světlušky (Luc2, s optimalizovanými kodony), která byla zavedena pomocí lentivirové transdukce s neschopností replikace. Výsledná polyklonální buněčná populace byla udržována pod selekcí puromycinem (1–5 µg/ml). Je vyžadována bezpečnostní třída S1. Tato klasifikace platí pouze v Německu a v jiných zemích se může lišit.

Biomolekulární data

Antigen expression	Luc2 (světluška, s optimalizovanými kodony)
--------------------	---

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase 10 minut při 37 °C
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	1 až 3
Seeding density	1 až 3 x 10 ⁴ buněk/cm ²
Fluid renewal	2 až 3krát týdně

Buňky HCC827-Luc | 305670

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení buď okamžitě uložte kryovialku při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 200 x g po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte.
7. Postupujte podle postupu popsaného v části Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza