Product sheet

Κύτταρα HCC827-Luc | 305670

Γενικές πληροφορίες

Description	Το HCC827-Luc είναι ένα βιοφωταυγές παράγωγο της ανθρώπινης κυτταρικής σειράς HCC827 αδενοκαρκινώματος του πνεύμονα, το οποίο έχει τροποποιηθεί γενετικά ώστε να εκφράζει σταθερά ένα γονίδιο-δείκτη λουσιφεράσης πυγολαμπίδας. Η μητρική κυτταρική σειρά HCC827 δημιουργήθηκε από ένα αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα και διακρίνεται για το ότι φέρει μια ενεργοποιητική διαγραφή στο εξόνιο 19 του EGFR (del E746-A750), η οποία προσδίδει υψηλή ευαισθησία σε αναστολείς της τυροσινικής κινάσης του EGFR (TKI), όπως το γεφιτινίμπ, το ερλοτινίμπ και το οσιμερτινίμπ. Ως εκ τούτου, η HCC827 αποτελεί ένα από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα προκλινικά μοντέλα για τη μελέτη της βιολογίας του καρκίνου του πνεύμονα που προκαλείται από τον EGFR, των μηχανισμών της επίκτητης αντοχής στους TKI και της αποτελεσματικότητας των στοχευμένων θεραπειών επόμενης γενιάς. Η σταθερή ενσωμάτωση της λουσιφεράσης στο HCC827-Luc επιτρέπει την ευαίσθητη, ποσοτική απεικόνιση βιοφωταύγειας (BLI) του όγκου σε μοντέλα ξενομοσχεύματος και ορθοτοπικού καρκίνου του πνεύμονα σε ανοσοκατεσταλμένους ξενιστές. Το εκπεμπόμενο φωταυγές σήμα συσχετίζεται με τον αριθμό των βιώσιμων καρκινικών κυττάρων, υποστηρίζοντας τη μη επεμβατική διαχρονική παρακολούθηση της εμφύτευσης του όγκου, της κινητικής ανάπτυξης, της μεταστατικής εξάπλωσης και της θεραπευτικής ανταπόκρισης. Αυτό καθιστά το HCC827-Luc ιδιαίτερα κατάλληλο για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των παραγόντων που στοχεύουν τον EGFR, των συνδυαστικών θεραπειών και των στρατηγικών αναστροφής της αντοχής σε προκλινικά in vivo περιβάλλοντα. Το HCC827-Luc διατηρεί τα βασικά μοριακά και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά της μητρικής σειράς HCC827, συμπεριλαμβανομένης της κατάστασης διαγραφής του εξονίου 19 του EGFR και της ευαισθησίας σε εγκεκριμένους αναστολείς του EGFR. Η τροποποίηση με λουσιφεράση ενισχύει σημαντικά την πειραματική ευαισθησία και την παραγωγικότητα, επιτρέποντας φαρμακοδυναμικές αξιολογήσεις σε πραγματικό χρόνο και διευκολύνοντας τόσο τον έλεγχο φαρμάκων υψηλής παραγωγικότητας όσο και τις μηχανιστικές έρευνες της βιολογίας της οδού του EGFR. Οι ερευνητές θα πρέπει να επαληθεύουν τη δραστηριότητα της λουσιφεράσης, την κατάσταση της μετάλλαξης του EGFR και την κινητική ανάπτυξης υπό τις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες τους πριν από τη χρήση σε ποσοτικές απεικονίσεις ή φαρμακολογικές μελέτες.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Πνεύμονας
Disease	Αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα

Χαρακτηριστικά

Age	39 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Ασιατικό
Morphology	Επιθηλιακό

Κύτταρα HCC827-Luc | 305670

Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HCC827-Luc (αριθμός καταλόγου Cytion 305670)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2063
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά περιέχει μια σταθερά ενσωματωμένη κασέτα αναφοράς λουσιφεράσης πυγολαμπίδας (Luc2, με βελτιστοποιημένα κωδόνια), η οποία εισήχθη μέσω λεντιϊκής μεταγωγής χωρίς ικανότητα αναπαραγωγής. Ο προκύπτων πολυκλωνικός κυτταρικός πληθυσμός διατηρήθηκε υπό επιλογή με πουρομυκίνη (1–5 μg/mL). Απαιτείται περιορισμός S1. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Antigen expression	Luc2 (πυγολαμπίδα, με βελτιστοποιημένα κωδόνια)

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase για 10 λεπτά στους 37 °C
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Split ratio	1 έως 3

Κύτταρα HCC827-Luc | 305670

Seeding density	1 έως 3 x 10^4 κύτ^{ταρα}/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.
Thawing and Culturing Cells	1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά. 2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια. 3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου. 4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα. 5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά. 6. Φυγοκεντρήστε το μείγμα στα 200 x g για 5 λεπτά, απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το μέσο κατάψυξης. 7. Ακολουθήστε τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα Ανάκτηση μετά την απόψυξη
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα HCC827-Luc | 305670

Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση