

HCC827-Luc rakud | 305670

Üldine teave

Description

HCC827-Luc on inimese HCC827 kopsu adenokartsinoomi rakuliini bioluminestsentne derivaat, mis on geneetiliselt muundatud tuletikk-luciferase reportergeeni stabiilseks ekspresseerimiseks. Algrakuliin HCC827 loodi kopsu adenokartsinoomi põhjal ning selle eripäraks on aktiveeriv EGFR-i eksoni 19 deleetsioon (del E746-A750), mis annab rakule kõrge tundlikkuse EGFR-i türosiinkinaasi inhibiitorite (TKI-de) suhtes, nagu gefitiniib, erlotiniib ja osimertiniib. Seetõttu on HCC827 üks laialdasemalt kasutatavaid prekliinilisi mudeleid EGFR-i poolt põhjustatud kopsuvähi bioloogia, omandatud TKI-resistentsuse mehhanismide ning järgmise põlvkonna sihtterapiate efektiivsuse uurimiseks.

Stabiilne lusiferaasi integratsioon HCC827-Luc-is võimaldab immuunpuudulikkusega peremeesorganismides ksenotransplantaadi- ja ortotopilistes kopsuvähi mudelites kasvajakoomuse tundlikku ja kvantitatiivset bioluminestsentskuvamist (BLI). Kiirgav luminescentssignaali korreleerub elujõuliste kasvajakude arvuga, võimaldades kasvajate juurdumise, kasvukineetika, metastaatilise leviku ja ravivastuse mitteinvasiivset pikaajalist jälgimist. See teeb HCC827-Luc-i eriti sobivaks EGFR-ile suunatud ravimite, kombinatsioonravi ja resistentsuse ületamise strateegiate tõhususe hindamiseks prekliinilistes in vivo tingimustes.

HCC827-Luc säilitab emaliini HCC827 peamised molekulaarsed ja fenotüübilised omadused, sealhulgas EGFR-i eksoni 19 deleetsiooni olemasolu ja tundlikkuse heakskiidetud EGFR-inhibiitorite suhtes. Lusiferaasi modifikatsioon suurendab oluliselt eksperimendi tundlikkust ja läbilaskevõimet, võimaldades reaajas farmakodünaamilisi hindamisi ning hõlbustades nii suure läbilaskevõimega ravimite sõelumist kui ka EGFR-signaalite bioloogia mehhanismide uurimist. Enne kasutamist kvantitatiivses pildistamises või farmakoloogilistes uuringutes peaksid teadlased oma konkreetsetes katsetingimustes kontrollima lusiferaasi aktiivsust, EGFR-mutatsiooni olemasolu ja kasvukineetikat.

Organism Inimene**Tissue** Kopsud**Disease** Kopsu adenokartsinoom

Omadused

Age 39 aastat**Gender** Naised**Ethnicity** Aasia**Morphology** Epiteel**Growth properties** Kinnipeetav

HCC827-Luc rakud | 305670

Regulatiivsed andmed

Citation	HCC827-Luc (Cytioni katalooginumber 305670)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2063
GMO Status	GMO-S1: See rakuliin sisaldab stabiilselt integreeritud tulikärbsse lucifereesi reporterkaasetti (Luc2, kodonoptimeeritud), mis on viidud sisse replikatsioonivõimega lentiviiruse transduktsiooni teel. Saadud polüklooniline rakupopulatsioon hoiti puromütsiini selektsiooni all (1–5 µg/ml). Nõutav on S1-ohutustase. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression	Luc2 (tulikärbes, kodonoptimeeritud)
--------------------	--------------------------------------

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase 10 minutit 37 °C juures
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Split ratio	1–3
Seeding density	1 kuni 3 x 10 ⁴ rakku/cm ²

HCC827-Luc rakud | 305670

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Tsentrifugeerige segu 5 minutit 200 x g juures, visake ettevaatlikult ära külmutusvedelikku sisaldav supernatant.
7. Järgige punktis "Taastamisjärgne taastamine" kirjeldatud menetlust

**Incubation
Atmosphere** 37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions** Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions** Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs