

NCI-N87-Luc rakud | 305695

Üldine teave

Description

NCI-N87-Luc on inimese NCI-N87 mao adenokartsinoomi rakuliini bioluminestsentne derivaat, mis on geneetiliselt muundatud särava säase lucifereesi reportergeeni stabiilseks ekspresseerimiseks. Algrakuliin NCI-N87 loodi Aafrika päritolu meespatsiendi mao tubulaarse adenokartsinoomi maksametastaasist ning seda iseloomustab HER2 (ERBB2) geeni amplifikatsioon ja valgu üliekspressioon, mis teeb sellest ühe peamistest HER2-positiivse maovähi prekliinilistest mudelitest. NCI-N87 rakud omavad epiteelilist morfoloogiat ja neid kasutatakse laialdaselt HER2-suunatud ravimite, sealhulgas trastuzumabi, pertuzumabi ja trastuzumab-emtansiini (T-DM1) efektiivsuse hindamiseks.

Stabiilne lusiferaasi integratsioon NCI-N87-Luc-is võimaldab tundlikku, mitteinvasiivset bioluminestsentskuvamist (BLI) kasvajakoomuse hindamiseks nahaalustes ja ortotopilistes ksenotransplantaadi mudelites immuunpuudulikkusega peremeesorganismides. Luminestsentssignaal korreleerub elujõuliste kasvajakude arvuga, võimaldades kasvajiirdamise, kasvu kineetika ning HER2-suunatud ravimite või kemoterapiapreparaatidele reageerimise pikaajalist jälgimist. NCI-N87-Luc on eriti väärtuslik antikeha-ravimkonjugaatide (ADC-de), bispetsiifiliste antikehade ja uute HER2-suunatud strateegiate prekliiniliseks hindamiseks maovähi puhul, samuti suure läbilaskevõimega ravimite sõelumise rakendustes.

NCI-N87-Luc säilitab emaliini NCI-N87 HER2-amplifitseeritud molekulaarse fenotüübi ja adhesiivse kasvu omadused. Lusiferaasi reporter suurendab eksperimendi läbilaskevõimet ja tundlikkust in vivo pildistamisuuringutes. Teadlased peaksid enne kvantitatiivsetes pildistamis- või farmakoloogilistes uuringutes kasutamist kinnitama lusiferase aktiivsuse, HER2 ekspressiooni staatuse ja kasvukineetika oma konkreetsetes katsetingimustes.

Organism

Inimene

Tissue

Maha

Disease

Mao tubulaarset adenokartsinoomi

Metastatic site

Maksa

Synonyms

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

Omadused

Age

Täpsustamata vanus

Gender

Mees

Ethnicity

Aafrika

Morphology

Epiteel

NCI-N87-Luc rakud | 305695

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

NCI-N87-Luc (Cytioni katalooginumbr 305695)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_1603

GMO Status

GMO-S1: See rakuliin sisaldab stabiilselt integreeritud tulikärbselucifereesi reporterkaasetti (Luc2, kodonoptimeeritud), mis on viidud sisse replikatsioonivõimetu 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)

Tumorigenic

Jah

Töötlemine

Culture Medium

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements

Lisage kasvukeskkonnale 10% FBS-i, 10 mM HEPES-i, 2,5 g/l glükoosi ja 1 mM naatriumpüruvaati

Dissociation Reagent

Accutase 10 minutit 37 °C juures

Subculturing

Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötmega ja peske need 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 need 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.

NCI-N87-Luc rakud | 305695

Split ratio 1–3**Seeding density** 2 kuni 4×10^4 rakku/cm²**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 vialal 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 vialali 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 vialali 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%_{CO2}, 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.

NCI-N87-Luc rakud | 305695

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid 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