

HCC827-Luc-solut | 305670

Yleisiä tietoja

Description

HCC827-Luc on ihmisen HCC827-keuhkojen adenokarsinoomasolulinjan bioluminesoiva johdannainen, joka on muokattu ilmentämään vakaasti tulikärpäsén lusiferaasi-raportointigeeniä. Alkuperäinen HCC827-solulinja on peräisin keuhkojen adenokarsinoomasta, ja se erottuu siitä, että siinä on aktivoiva EGFR-eksonin 19 deleetio (del E746-A750), joka aiheuttaa suuren herkkyyden EGFR-tyrosiinikinaasi-inhibiittoreille (TKI:t), kuten gefitinibille, erlotinibi ja osimertinibi. HCC827 onkin yksi laajimmin käytetyistä prekliinisistä malleista, joilla tutkitaan EGFR:n ohjaamaa keuhkosyövän biologiaa, hankitun TKI-resistenssin mekanismeja sekä seuraavan sukupolven kohdennettujen hoitojen tehoa.

HCC827-Luc-solulinjan vakaa lusiferaasi-integraatio mahdollistaa herkän, kvantitatiivisen bioluminesenssikuvantamisen (BLI) kasvainkuormasta ksenotransplantaatti- ja ortotopisissa keuhkosyöpämalleissa immuunipuutteisissa isännissä. Lähetetty luminesenssisignaali korreloi elävien kasvainsolujen lukumäärän kanssa, mikä tukee kasvaimen kiinnittymisen, kasvukineettisen, metastaatitien leviämisen ja hoitovasteen ei-invasiivista pitkittäistutkimusta. Tämän ansiosta HCC827-Luc sopii erityisen hyvin EGFR:ään kohdistuvien lääkeaineiden, yhdistelmähoitojen ja resistenssin kumoamisstrategioiden tehokkuuden arviointiin prekliinisissä in vivo -olosuhteissa.

HCC827-Luc säilyttää emolinjan HCC827 keskeiset molekyyliset ja fenotyypiset ominaisuudet, mukaan lukien EGFR-eksonin 19 deleetion ja herkkyyden hyväksytyille EGFR-estäjille. Lusiferaasimodifikaatio parantaa merkittävästi kokeiden herkkyyttä ja läpimenokapasiteettia, mahdollistaa reaaliaikaiset farmakodynaamiset arvioinnit sekä helpottaa sekä suurikapasiteettista lääkeaineiden seulontaa että EGFR-signaalintireitin biologian mekanistisia tutkimuksia. Tutkijoiden tulee tarkistaa lusiferaasiaktiivisuus, EGFR-mutaatioiden tila ja kasvukineettiset ominaisuudet omissa kokeellisissa olosuhteissaan ennen käyttöä kvantitatiivisessa kuvantamisessa tai farmakologisissa tutkimuksissa.

Organism

Ihminen

Tissue

Keuhkot

Disease

Keuhkojen adenokarsinooma

Ominaisuudet

Age

39 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Aasialainen

Morphology

Epiteeli

Growth properties

Tarttuva

HCC827-Luc-solut | 305670

Säätelytiedot

Citation	HCC827-Luc (Cytionin tuotenumero 305670)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2063
GMO Status	GMO-S1: Tämä solulinja sisältää vakaasti integroidun tulikärpäsen lusiferaasi-raportointikasetin (Luc2, kodonien suhteen optimoitu), joka on tuotu soluihin replikaatiokyvyttömän lentiviruksen välityksellä. Tuloksena saatu polyklonaalinen solupopulaatio ylläpidettiin puromysiiniselektiossa (1–5 µg/ml). S1-turvaluokitus vaaditaan. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.

Biomolekyyli tiedot

Antigen expression	Luc2 (tulikärpäsen, kodonoptimoitu)
--------------------	-------------------------------------

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase 10 minuuttia 37 °C:ssa
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Split ratio	1–3
Seeding density	1–3 x 10 ⁴ solua/cm ²

HCC827-Luc-solut | 305670

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa + 10 % DMSO:ta, jotta elinkelpoisuus olisi riittävä sulatuksen jälkeen.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 200 x g:n voimakkuudella 5 minuuttia ja hävitä varovasti pakastusmediaa sisältävä supernatantti.
7. Noudatetaan kohdassa Sulattamisen jälkeinen talteenotto kuvattua menettelyä

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi