

HCC827-Luc sejtek | 305670

Általános információk

Description

A HCC827-Luc az emberi HCC827 tüdőadenokarcinóma sejtvonal biolumineszcens származéka, amelyet úgy alakítottak ki, hogy stabilan kifejezze a szentjánosbogár-luciferáz riportergént. Az eredeti HCC827 sejtvonalat tüdőadenokarcinómából állították elő, és az azzal jellemezhető, hogy aktiváló EGFR exon 19 deléciót (del E746-A750) hordoz, amely nagyfokú érzékenységet biztosít az EGFR-tirozin-kináz-gátlók (TKI-k) – például a gefitinib, az erlotinib és az osimertinib. Az HCC827 ezért az egyik legszélesebb körben használt preklinikai modell az EGFR-vezérelt tüdőrák biológiájának, a szerzett TKI-rezisztencia mechanizmusainak, valamint a következő generációs célzott terápiák hatékonyságának vizsgálatához.

A HCC827-Luc-ban található stabil luciferáz-integráció lehetővé teszi a tumorterhelés érzékeny, kvantitatív biolumineszcens képalkotását (BLI) xenotranszplantátum- és ortotópos tüdőtumor-modellekben immunhiányos gazdaszervezetekben. A kibocsátott lumineszcens jel korrelál az életképes tumorsejtek számával, ami lehetővé teszi a tumor beültetésének, növekedési kinetikájának, metasztatikus terjedésének és a terápiás válaszra adott reakciójának nem invazív, longitudinális nyomon követését. Ezért az HCC827-Luc különösen alkalmas az EGFR-célzott szerek, a kombinációs terápiák és a rezisztencia-visszafordítási stratégiák hatékonyságának értékelésére preklinikai in vivo körülmények között.

Az HCC827-Luc megőrzi az eredeti HCC827 vonal legfontosabb molekuláris és fenotípusos jellemzőit, beleértve az EGFR 19. exonjának delécióját és a jóváhagyott EGFR-gátlók iránti érzékenységet. A luciferáz-módosítás jelentősen növeli a kísérleti érzékenységet és az átbocsátóképességet, lehetővé téve a valós idejű farmakodinamikai értékeléseket, valamint elősegítve mind a nagy átbocsátóképességű gyógyszyszűrést, mind az EGFR-útvonal biológiájának mechanisztikus vizsgálatait. A kutatóknak a kvantitatív képalkotásban vagy farmakológiai vizsgálatokban való felhasználás előtt ellenőrizniük kell a luciferáz-aktivitást, az EGFR-mutáció állapotát és a növekedési kinetikát a saját kísérleti körülményeik között.

Organism

Emberi

Tissue

Tüdő

Disease

Tüdő adenokarcinóma

Jellemzők

Age

39 év

Gender

Női

Ethnicity

Ázsiai

Morphology

Epithelialis

Growth properties

Adherent

HCC827-Luc sejtek | 305670

Szabályozási adatok

Citation	HCC827-Luc (Cytion katalógusszám: 305670)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2063
GMO Status	GMO-S1: Ez a sejtvonal egy stabilan integrált szentjánosbogár-luciferáz riporterkazettát (Luc2, kodonoptimalizált) tartalmaz, amelyet replikációra képtelen lentivirális transzdukciónal juttattak be. A kapott poliklonális sejtpopulációt puromicin-szelekció (1–5 µg/mL) mellett tartották fenn. S1-es biztonsági besorolás szükséges. Ez a besorolás kizárólag Németország területén érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

Antigen expression	Luc2 (szentjánosbogár, kodonoptimalizált)
--------------------	---

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase 10 percig 37 °C-on
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Split ratio	1–3
Seeding density	1–3 x 10 ⁴ sejt/cm ²

HCC827-Luc sejtek | 305670**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében.**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és felnyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtsuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $200 \times g$ -nél 5 percig, a fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót óvatosan dobjuk el.
7. Kövesse a felolvasztás utáni helyreállításnál leírt eljárást

**Incubation
Atmosphere** 37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.**Shipping
Conditions** A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.**Storage
Conditions** Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.**Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés**