

HCC827-Luc ląstelės | 305670

Bendra informacija

Description

HCC827-Luc yra bioluminescencinis žmogaus plaučių adenokarcinomos ląstelių linijos HCC827 darinys, genetiškai modifikuotas taip, kad stabiliai ekspresuotų jonvabalių liuciferazės reporterinį geną. Pirminė HCC827 ląstelių linija buvo sukurta iš plaučių adenokarcinomos ir išsiskiria tuo, kad joje yra aktyvuojanti EGFR 19-ojo eksono delecija (del E746-A750), kuri suteikia didelį jautrumą EGFR tirozino kinazės inhibitoriams (TKI), tokiems kaip gefitinibas, erlotinibo ir osimertinibo. Todėl HCC827 yra vienas iš plačiausiai naudojamų ikiklinikinių modelių, skirtų EGFR sukeltos plaučių vėžio biologijos, įgyto atsparumo TKI mechanizmų ir naujos kartos tikslinio gydymo veiksmingumo tyrimams.

Stabili liuciferazės integracija HCC827-Luc ląstelėse leidžia atlikti jautrų, kiekybinį bioluminescencinį vaizdavimą (BLI), vertinant naviko apimtį ksenotransplantatų ir ortotopinių plaučių navikų modeliuose imuninės sistemos susilpnėjusių šeimininkų organizmuose. Išskiriamas liuminescencinis signalas koreliuoja su gyvybingų naviko ląstelių skaičiumi, o tai leidžia neinvaziniu būdu stebėti naviko įsitvirtinimą, augimo kinetiką, metastazių plitimą ir atsaką į gydymą. Dėl to HCC827-Luc ypač tinka vertinti EGFR tikslinio poveikio preparatų, kombinuotų terapijų ir atsparumo panaikinimo strategijų veiksmingumą ikiklinikiniuose in vivo tyrimuose.

HCC827-Luc išlaiko pagrindines molekulines ir fenotipines tėvinės HCC827 linijos savybes, įskaitant EGFR 19-ojo eksono delecijos statusą ir jautrumą patvirtintiems EGFR inhibitoriams. Luciferazės modifikacija žymiai padidina eksperimentinį jautrumą ir našumą, leidžia atlikti farmakodinaminius vertinimus realiuoju laiku bei palengvina tiek didelio našumo vaistų atranką, tiek EGFR kelio biologijos mechanizmų tyrimus. Prieš naudodami šią liniją kiekybiniais vaizdavimo ar farmakologiniams tyrimams, tyrėjai turėtų patikrinti luciferazės aktyvumą, EGFR mutacijų būklę ir augimo kinetiką savo konkrečiomis eksperimentinėmis sąlygomis.

Organism

Žmogus

Tissue

Plaučiai

Disease

Plaučių adenokarcinoma

Charakteristikos

Age

39 metai

Gender

Moteris

Ethnicity

Azijos

Morphology

Epitelis

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys

HCC827-Luc ląstelės | 305670

Citation	HCC827-Luc (Cytion katalogo numeris 305670)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2063
GMO Status	GMO-S1: Šioje ląstelių linijoje yra stabiliai integruota jonvabalių liuciferazės reporterinė kasetė (Luc2, kodonų atžvilgiu optimizuota), įterpta naudojant replikacijos nesugebančią lentivirusinę transdukciją. Gauta polikloninė ląstelių populiacija buvo išlaikyta atliekant selekciją puromicinu (1–5 µg/mL). Reikalaujamas S1 saugumo lygis. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Antigen expression	Luc2 (vabalas, kodonų optimizuotas)
---------------------------	-------------------------------------

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	„Accutase“ 10 min. 37 °C temperatūroje
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Split ratio	1–3
Seeding density	$1-3 \times 10^4$ ląstelės/cm ²
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę

HCC827-Luc ląstelės | 305670**Freeze medium**

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 200 x g greičiu 5 minutes, atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpe.
7. Atlikite procedūrą, aprašytą skyriuje "Atkūrimas po atšildymo"

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė