

HCC827-Luc šūnas | 305670

Vispārīga informācija

Description

HCC827-Luc ir cilvēka plaušu adenokarcinomas šūnu līnijas HCC827 bioluminiscējošs atvasinājums, kas ģenētiski modificēts, lai stabili ekspresētu ugunskurku luciferāzes reportergēnu. Sākotnējā HCC827 šūnu līnija tika izveidota no plaušu adenokarcinomas un izceļas ar aktivējošu EGFR 19. eksona deleciju (del E746-A750), kas nodrošina augstu jutību pret EGFR tirozīna kināzes inhibitoriem (TKI), piemēram, gefitinibu, erlotinibu un osimertinibu. Tādējādi HCC827 ir viens no visplašāk izmantotajiem pirmsklīniskajiem modeļiem, lai pētītu EGFR izraisītā plaušu vēža bioloģiju, iegūtās TKI rezistences mehānismus un nākamās paaudzes mērķtiecīgo terapiju efektivitāti.

Stabila luciferāzes integrācija HCC827-Luc šūnās ļauj veikt jutīgu, kvantitatīvu bioluminiscences attēlveidošanu (BLI), lai novērtētu audzēja apjomu ksenotransplantātu un ortotopiskos plaušu audzēja modeļos imūndeficītiem saņēmējiem. Izstarotais luminescences signāls korelē ar dzīvotspējīgo audzēja šūnu skaitu, tādējādi atbalstot neinvazīvu audzēja implantācijas, augšanas kinētikas, metastāžu izplatības un terapeitiskās atbildes garenvirziena novērošanu. Tādēļ HCC827-Luc ir īpaši piemērots EGFR mērķtiecīgo līdzekļu, kombinēto terapiju un rezistences atgriešanas stratēģiju efektivitātes novērtēšanai pirmsklīniskos in vivo apstākļos.

HCC827-Luc saglabā vecāklīnijas HCC827 galvenās molekulārās un fenotipiskās īpašības, tostarp EGFR 19. eksona delecijas statusu un jutību pret apstiprinātiem EGFR inhibitoriem. Luciferāzes modifikācija ievērojami uzlabo eksperimentālo jutību un caurlaidspēju, ļaujot veikt farmakodinamiskus novērtējumus reālajā laikā un atvieglojot gan augstas caurlaidspējas zāļu skrīningu, gan EGFR signālceļa bioloģijas mehānismu izpēti. Pētniekiem pirms izmantošanas kvantitatīvajā attēlveidošanā vai farmakoloģiskajos pētījumos ir jāpārbauda luciferāzes aktivitāte, EGFR mutāciju statuss un augšanas kinētika savos konkrētajos eksperimentālajos apstākļos.

Organism

Cilvēks

Tissue

Plaušas

Disease

Plaušu adenokarcinoma

Raksturojums

Age

39 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Āzijas

Morphology

Epitēlija

Growth properties

Adherent

HCC827-Luc šūnas | 305670

Normatīvie dati

Citation	HCC827-Luc (Cytion kataloga numurs 305670)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2063
GMO Status	GMO-S1: Šī šūnu līnija satur stabili integrētu ugunskrēsliņa luciferāzes reporterkāsešu (Luc2, kodonu optimizēta), kas ievadīta, izmantojot replikācijas nespējīgu lentivīrusa transdukciju. Iegūtā poliklonālā šūnu populācija tika uzturēta puromicīna selekcijas apstākļos (1–5 µg/ml). Ir nepieciešama S1 drošības klase. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Antigen expression	Luc2 (spožā muša, kodonu optimizēts)
--------------------	--------------------------------------

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase 10 minūtes 37 °C temperatūrā
Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Split ratio	no 1 līdz 3
Seeding density	1 līdz 3 x 10 ⁴ šūnas/cm ²

HCC827-Luc šūnas | 305670

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze