

HCC827-Luc-cellen | 305670

Algemene informatie

Description

HCC827-Luc is een bioluminescent derivaat van de menselijke HCC827-longadenocarcinoomcellijn, dat genetisch is gemodificeerd om op stabiele wijze een vuurvlieg-luciferase-reportergen tot expressie te brengen. De oorspronkelijke HCC827-cellijn is opgezet uit een longadenocarcinoom en valt op door de aanwezigheid van een activerende EGFR-exon-19-deletie (del E746-A750), die zorgt voor een hoge gevoeligheid voor EGFR-tyrosinekinaseremmers (TKI's) zoals gefitinib, erlotinib en osimertinib. HCC827 is daarom een van de meest gebruikte preklinische modellen voor het bestuderen van de biologie van EGFR-gedreven longkanker, de mechanismen van verworven TKI-resistentie en de werkzaamheid van gerichte therapieën van de volgende generatie.

De stabiele integratie van luciferase in HCC827-Luc maakt gevoelige, kwantitatieve bioluminescentiebeeldvorming (BLI) mogelijk van de tumorbelasting in xenotransplantaat- en orthotopie longtumormodellen bij immuungecompromitteerde gastheren. Het uitgezonden luminescentiesignaal correleert met het aantal levensvatbare tumorcellen, wat niet-invasieve longitudinale monitoring van tumorengraftment, groeikinetiek, metastatische verspreiding en therapeutische respons mogelijk maakt. Dit maakt HCC827-Luc bijzonder geschikt voor het evalueren van de werkzaamheid van EGFR-gerichte middelen, combinatietherapieën en strategieën voor het omkeren van resistentie in preklinische in-vivo-omgevingen.

HCC827-Luc behoudt de belangrijkste moleculaire en fenotypische kenmerken van de oorspronkelijke HCC827-lijn, waaronder de EGFR-exon-19-deletie en de gevoeligheid voor goedgekeurde EGFR-remmers. De luciferase-modificatie verhoogt de experimentele gevoeligheid en doorvoert aanzienlijk, waardoor realtime farmacodynamische beoordelingen mogelijk worden en zowel high-throughput-geneesmiddelen screening als mechanistisch onderzoek naar de biologie van de EGFR-route worden vergemakkelijkt. Onderzoekers dienen de luciferase-activiteit, de EGFR-mutatiestatus en de groeikinetiek onder hun specifieke experimentele omstandigheden te verifiëren alvorens het te gebruiken in kwantitatieve beeldvorming of farmacologische studies.

Organism

Mens

Tissue

Long

Disease

Longadenocarcinoom

Kenmerken

Age

39 jaar

Gender

Vrouw

Ethnicity

Aziatisch

Morphology

Epitheel

HCC827-Luc-cellen | 305670

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens**Citation**

HCC827-Luc (Cytion-catalogusnummer 305670)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_2063

GMO Status

GMO-S1: Deze cellijn bevat een stabiel geïntegreerde vuurvlieg-luciferase-reportercassette (Luc2, codon-geoptimaliseerd) die is ingebracht via replicatie-incompetente lentivirale transductie. De resulterende polyklonale celpopulatie werd in stand gehouden onder puromycineselectie (1–5 µg/mL). S1-beheersingsniveau is vereist. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens**Antigen expression**

Luc2 (vuurvlieg, codon-geoptimaliseerd)

Omgaan met**Culture Medium**RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements**

Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase 10 minuten bij 37 °C

Subculturing

Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio

1 tot en met 3

HCC827-Luc-cellen | 305670

Seeding density 1 tot 3×10^4 cellen/cm²

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open de gedesinfecteerde flacon voorzichtig en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 5 minuten bij 200 x g en gooi het supernatant met vriesmedium voorzichtig weg.
7. Volg de procedure beschreven onder Herstel na ontdooien

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, bevochtigde atmosfeer.

Shipping Conditions Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

HCC827-Luc-cellen | 305670

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse