

Komórki HCC827-Luc | 305670

Informacje ogólne

Description

HCC827-Luc to bioluminescencyjna odmiana ludzkiej linii komórkowej HCC827 pochodzącej z gruczolakoraka płuca, zmodyfikowana genetycznie w celu stabilnej ekspresji genu reporterowego lucyferazy świetlika. Pierwotna linia komórkowa HCC827 została wyhodowana z gruczolakoraka płuca i charakteryzuje się obecnością aktywującej delecji w eksonie 19 receptora EGFR (del E746-A750), która nadaje jej wysoką wrażliwość na inhibitory kinazy tyrozynowej EGFR (TKI), takie jak gefitynib, erlotynib oraz osimertynib. HCC827 jest zatem jednym z najczęściej stosowanych modeli przedklinicznych do badania biologii raka płuca wywołanego przez EGFR, mechanizmów nabytej oporności na TKI oraz skuteczności terapii celowanych nowej generacji.

Stabilna integracja lucyferazy w linii HCC827-Luc umożliwia czułe, ilościowe obrazowanie bioluminescencyjne (BLI) obciążenia nowotworowego w modelach nowotworów płuc opartych na przeszczepach heterogenicznych i ortotopicznych u gospodarzy z obniżoną odpornością. Emitowany sygnał luminescencyjny koreluje z liczbą żywych komórek nowotworowych, umożliwiając nieinwazyjne monitorowanie w czasie długoterminowym wszczepienia nowotworu, kinetyki wzrostu, rozprzestrzeniania się przerzutów oraz odpowiedzi na leczenie. Dzięki temu linia HCC827-Luc nadaje się szczególnie do oceny skuteczności leków ukierunkowanych na EGFR, terapii skojarzonych oraz strategii odwracania oporności w przedklinicznych warunkach in vivo.

HCC827-Luc zachowuje kluczowe cechy molekularne i fenotypowe macierzystej linii HCC827, w tym status delecji eksonu 19 EGFR oraz wrażliwość na zatwierdzone inhibitory EGFR. Modyfikacja lucyferazowa znacznie zwiększa czułość eksperymentalną i przepustowość, umożliwiając ocenę farmakodynamiczną w czasie rzeczywistym oraz ułatwiając zarówno wysokoprzepustowe badania przesiewowe leków, jak i badania mechanistyczne biologii szlaku EGFR. Przed zastosowaniem w badaniach obrazowania ilościowego lub badaniach farmakologicznych naukowcy powinni zweryfikować aktywność lucyferazy, status mutacji EGFR oraz kinetykę wzrostu w swoich konkretnych warunkach eksperymentalnych.

Organism Człowiek**Tissue** Płuco**Disease** Gruczolakorak płuc

Charakterystyka

Age 39 lat**Gender** Kobieta**Ethnicity** Azjatycki**Morphology** Nabłonek

Komórki HCC827-Luc | 305670

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Citation

HCC827-Luc (numer katalogowy Cytion 305670)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_2063

GMO Status

GMO-S1: Ta linia komórkowa zawiera stabilnie zintegrowaną kasetę reporterową z lucyferazą świetlika (Luc2, zoptymalizowaną pod kątem kodonów), wprowadzoną za pomocą transdukcji lentiwirusowej bez zdolności do replikacji. Powstałą populację komórek poliklonalnych utrzymywano pod selekcją puromycyną (1–5 µg/ml). Wymagany jest poziom bezpieczeństwa S1. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Antigen expression

Luc2 (światlik, zoptymalizowany pod kątem kodonów)

Obsługa

Culture Medium

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)

Supplements

Uzupełnić podłoże 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase – 10 minut w temperaturze 37°C

Subculturing

Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio

od 1 do 3

Komórki HCC827-Luc | 305670

Seeding density 1 do 3×10^4 komórek/cm²

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 200 x g przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania.
7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HCC827-Luc | 305670

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna