

Komórki NCI-N87-Luc | 305695

Informacje ogólne

Description

NCI-N87-Luc to bioluminescencyjna odmiana ludzkiej linii komórkowej gruczolakoraka żołądka NCI-N87, zmodyfikowana genetycznie w celu stabilnej ekspresji genu reporterowego lucyferazy świetlika. Pierwotna linia komórkowa NCI-N87 została wyizolowana z przerzutów do wątroby raka gruczołowego żołądka u pacjenta płci męskiej pochodzenia afrykańskiego i charakteryzuje się amplifikacją genu HER2 (ERBB2) oraz nadekspresją białka, co czyni ją jednym z podstawowych modeli przedklinicznych raka żołądka HER2-dodatniego. Komórki NCI-N87 wykazują morfologię nabłonkową i są szeroko stosowane do oceny skuteczności terapii ukierunkowanych na HER2, w tym trastuzumabu, pertuzumabu i trastuzumabu-emtansyny (T-DM1).

Stabilna integracja lucyferazy w komórkach NCI-N87-Luc umożliwia czułe, nieinwazyjne obrazowanie bioluminescencyjne (BLI) obciążenia nowotworowego w modelach przeszczepów podskórnych i ortotopowych u gospodarzy z obniżoną odpornością. Sygnał luminescencyjny koreluje z liczbą żywych komórek nowotworowych, co umożliwia długoterminowe monitorowanie wszczepienia guza, kinetyki wzrostu oraz odpowiedzi na leki ukierunkowane na HER2 lub środki chemioterapeutyczne. Linia NCI-N87-Luc jest szczególnie cenna w przedklinicznej ocenie koniugatów przeciwciał z lekami (ADC), przeciwciał bispecyficznych oraz nowych strategii ukierunkowanych na HER2 w raku żołądka, a także w zastosowaniach związanych z wysokoprzepustowym przesiewaniem leków.

NCI-N87-Luc zachowuje fenotyp molekularny z amplifikacją HER2 oraz cechy wzrostu adhezyjnego macierzystej linii NCI-N87. Reporter lucyferazy zwiększa wydajność eksperymentalną i czułość badań obrazowania in vivo. Przed zastosowaniem w badaniach obrazowania ilościowego lub badaniach farmakologicznych naukowcy powinni potwierdzić aktywność lucyferazy, status ekspresji HER2 oraz kinetykę wzrostu w swoich konkretnych warunkach eksperymentalnych.

Organism Człowiek**Tissue** Żołądek**Disease** Gruczolakorak cewkowy żołądka**Metastatic site** Wątroba**Synonyms** NCI-N87, NCI N87, N-87, NCI-H87, H87, H-87, NCIN87

Charakterystyka

Age Wiek nieokreślony**Gender** Męczyzna**Ethnicity** Afrykański**Morphology** Nabłonek

Komórki NCI-N87-Luc | 305695

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation NCI-N87-Luc (numer katalogowy Cytion 305695)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1603

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)

Tumorigenic Tak

Obsługa

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

Supplements Do pożywki należy dodać 10% FBS, 10 mM HEPES, 2,5 g/l glukozy oraz 1 mM pirogronianu sodu

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.

Komórki NCI-N87-Luc | 305695

Split ratio od 1 do 3

Seeding density 2 do 4×10^4 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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki NCI-N87-Luc | 305695

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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