

Celule HCC827-Luc | 305670

Informații generale

Description

HCC827-Luc este un derivat bioluminescent al liniei celulare umane HCC827 de adenocarcinom pulmonar, modificată genetic pentru a exprima în mod stabil o genă reporter de luciferază de licurici. Linia celulară parentală HCC827 a fost obținută dintr-un adenocarcinom pulmonar și se remarcă prin prezența unei deleții activatoare a exonului 19 al EGFR (del E746-A750), care îi conferă o sensibilitate ridicată la inhibitorii de tirozin-kinază ai EGFR (TKI), precum gefitinib, erlotinib și osimertinib. Prin urmare, HCC827 este unul dintre cele mai utilizate modele preclinice pentru studierea biologiei cancerului pulmonar determinat de EGFR, a mecanismelor de rezistență dobândită la TKI și a eficacității terapiilor țintite de nouă generație.

Integrarea stabilă a luciferazei în HCC827-Luc permite imagistica prin bioluminescență (BLI) sensibilă și cantitativă a încărcăturii tumorale în modele de tumori pulmonare xenotransplantate și ortotopice la gazde imunocompromise. Semnalul luminescent emis se corelează cu numărul de celule tumorale viabile, susținând monitorizarea longitudinală neinvazivă a grefării tumorale, a cineticii de creștere, a diseminării metastatice și a răspunsului terapeutic. Acest lucru face ca HCC827-Luc să fie deosebit de potrivit pentru evaluarea eficacității agenților țintiți împotriva EGFR, a terapiilor combinate și a strategiilor de inversare a rezistenței în condiții preclinice in vivo.

HCC827-Luc păstrează caracteristicile moleculare și fenotipice cheie ale liniei parentale HCC827, inclusiv statutul de deleție a exonului 19 al EGFR și sensibilitatea la inhibitorii EGFR aprobați. Modificarea cu luciferază îmbunătățește substanțial sensibilitatea și randamentul experimental, permițând evaluări farmacodinamice în timp real și facilitând atât screeningul de mare randament al medicamentelor, cât și investigațiile mecaniciste privind biologia căii EGFR. Cercetătorii ar trebui să verifice activitatea luciferazei, statutul mutației EGFR și cinetica de creștere în condițiile lor experimentale specifice înainte de utilizare în imagistica cantitativă sau în studiile farmacologice.

Organism

Om

Tissue

Plămân

Disease

Adenocarcinom pulmonar

Caracteristici

Age

39 de ani

Gender

Femei

Ethnicity

Asiatice

Morphology

Epitelial

Growth properties

Aderent

Celule HCC827-Luc | 305670

Date de reglementare

Citation	HCC827-Luc (număr de catalog Cytion 305670)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2063
GMO Status	GMO-S1: Această linie celulară conține o casetă reporter de luciferază de licurici (Luc2, optimizată la nivel de codon) integrată stabil, introdusă prin transducție lentivirală incompetentă din punct de vedere al replicării. Populația celulară policlonală rezultată a fost menținută sub selecție cu puromicină (1–5 µg/mL). Este necesară izolarea de tip S1. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

Date biomoleculare

Antigen expression	Luc2 (licurici, optimizat la nivel de codon)
--------------------	--

Manipulare

Culture Medium	RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO ₃ (număr articol Cytion 820700a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase, 10 minute la 37 °C
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Split ratio	1–3
Seeding density	1 până la 3×10^4 cel ^{ule} /cm ²

Celule HCC827-Luc | 305670

Fluid renewal de 2 până la 3 ori pe săptămână

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 200 x g timp de 5 minute, se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare.
7. Se urmează procedura descrisă la secțiunea Recuperare după decongelare

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară