

Bunky HCC827-Luc | 305670**Všeobecné informácie****Description**

HCC827-Luc je bioluminiscenčný derivát ľudskej bunkovej línie HCC827 z adenokarcinómu pľúc, geneticky upravený tak, aby stabilne exprimoval reportérový gén luciferázy svätajánskej mušky. Pôvodná bunková línia HCC827 bola izolovaná z adenokarcinómu pľúc a vyznačuje sa prítomnosťou aktivujúcej delécie exónu 19 génu EGFR (del E746-A750), ktorá jej zaisťuje vysokú citlivosť na inhibítory tyrozínkinázy EGFR (TKI), ako sú gefitinib, erlotinib a osimertinib. HCC827 je preto jedným z najčastejšie používaných predklinických modelov na štúdium biológie rakoviny pľúc riadenej EGFR, mechanizmov získanej rezistencie voči TKI a účinnosti cielených terapií novej generácie.

Stabilná integrácia luciferázy v HCC827-Luc umožňuje citlivé, kvantitatívne bioluminiscenčné zobrazovanie (BLI) nádorovej záťaže v modeloch xenotransplantátov a ortotopických pľúcnych nádorov u imunokompromitovaných hostiteľov. Vysielaný luminiscenčný signál koreluje s počtom životaschopných nádorových buniek, čo umožňuje neinvazívne longitudinálne monitorovanie prihojenia nádoru, kinetiky rastu, metastatického šírenia a terapeuticko odpovede. Vďaka tomu je HCC827-Luc obzvlášť vhodný na hodnotenie účinnosti liekov zameraných na EGFR, kombinovaných terapií a stratégií zvrátenia rezistencie v predklinických in vivo podmienkach.

HCC827-Luc si zachováva kľúčové molekulárne a fenotypové vlastnosti rodičovskej línie HCC827, vrátane prítomnosti delécie exónu 19 génu EGFR a citlivosti na schválené inhibítory EGFR. Modifikácia luciferázou podstatne zvyšuje experimentálnu citlivosť a priepustnosť, čo umožňuje farmakodynamické hodnotenia v reálnom čase a uľahčuje ako vysokokapacitné skríningovanie liekov, tak aj mechanistické skúmanie biológie signálnej dráhy EGFR. Výskumníci by mali pred použitím v kvantitatívnom zobrazovaní alebo farmakologických štúdiách overiť aktivitu luciferázy, stav mutácie EGFR a kinetiku rastu za svojich špecifických experimentálnych podmienok.

Organism

Ľudské

Tissue

Pľúca

Disease

Adenokarcinóm pľúc

Charakteristika**Age**

39 rokov

Gender

Ženy

Ethnicity

Ázijské

Morphology

Epitelové

Growth properties

Adherent

Bunky HCC827-Luc | 305670

Regulačné údaje

Citation	HCC827-Luc (katalógové číslo Cytion 305670)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2063
GMO Status	GMO-S1: Táto bunková línia obsahuje stabilne integrovanú reportérovú kazetu s luciferázou svätého Jánskej mušky (Luc2, s optimalizovanými kodónmi), ktorá bola zavedená prostredníctvom lentivírusovej transdukcie bez schopnosti replikácie. Výsledná polyklonálna bunková populácia bola udržiavaná pod selekciou puromycínom (1–5 µg/ml). Je vyžadované bezpečnostné opatrenie triedy S1. Táto klasifikácia platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje

Antigen expression	Luc2 (svetluška, s optimalizovanými kodónmi)
--------------------	--

Spracovanie

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase 10 minút pri 37 °C
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Split ratio	1 až 3
Seeding density	1 až 3 x 10 ⁴ buniek/cm ²

Bunky HCC827-Luc | 305670

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

Freeze medium Ako médium na kryokonzerváciu používame kompletne rastové médium + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 200 x g počas 5 minút, supernatant obsahujúci zmrazovacie médium opatrne zlikvidujte.
7. Postupujte podľa postupu opísaného v časti Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza