

Celice HCC827-Luc | 305670

Splošne informacije

Description

HCC827-Luc je bioluminiscenčni derivat človeške celične linije HCC827 za pljučni adenokarcinom, ki je bil genetsko spremenjen tako, da stabilno izraža reporterni gen luciferaze svetlečega hrošča. Izvorna celična linija HCC827 je bila vzpostavljena iz pljučnega adenokarcinoma in je znana po tem, da vsebuje aktivirajočo delecijo eksona 19 gena EGFR (del E746-A750), ki ji daje visoko občutljivost na zaviralce tirozinske kinaze EGFR (TKI), kot so gefitinib, erlotinib in osimertinib. HCC827 je zato eden najpogostejše uporabljenih predkliničnih modelov za preučevanje biologije pljučnega raka, ki ga povzroča EGFR, mehanizmov pridobljene odpornosti na TKI ter učinkovitosti ciljnih terapij naslednje generacije.

Stabilna integracija luciferaze v HCC827-Luc omogoča občutljivo, kvantitativno bioluminiscenčno slikanje (BLI) tumorske obremenitve v modelih ksenotransplantatov in ortotopnih pljučnih tumorjev pri imunokompromitiranih gostiteljih. Izsevan luminescenčni signal je v korelaciji s številom živih tumorskih celic, kar omogoča neinvazivno longitudinalno spremljanje vživetja tumorja, kinetične rasti, metastaziranja in terapevtskega odziva. Zaradi tega je linija HCC827-Luc še posebej primerna za ocenjevanje učinkovitosti zdravil, usmerjenih proti EGFR, kombiniranih terapij in strategij za preprečevanje odpornosti v predkliničnih in vivo razmerah.

HCC827-Luc ohranja ključne molekularne in fenotipne značilnosti izvirne linije HCC827, vključno s statusom delecije eksona 19 gena EGFR in občutljivostjo na odobrene zaviralce EGFR. Modifikacija z luciferozo bistveno izboljša eksperimentalno občutljivost in zmogljivost, kar omogoča farmakodinamične ocene v realnem času ter olajšuje tako visoko zmogljivo presejanje zdravil kot tudi mehanistične raziskave biologije poti EGFR. Raziskovalci morajo pred uporabo v kvantitativnih slikovnih ali farmakoloških študijah preveriti aktivnost luciferaze, status mutacije EGFR in kinetično rast v svojih specifičnih eksperimentalnih pogojih.

Organism

Človek

Tissue

Pljuča

Disease

Pljučni adenokarcinom

Značilnosti

Age

39 let

Gender

Ženske

Ethnicity

Azijski

Morphology

Epitelijski

Growth properties

Pripadajoče

Celice HCC827-Luc | 305670

Regulativni podatki

Citation	HCC827-Luc (katalogska številka Cytion 305670)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2063
GMO Status	GMO-S1: Ta celična linija vsebuje stabilno vgrajeno poročevalsko kaseto luciferaze svetlečega črviča (Luc2, kodonsko optimizirano), ki je bila vnesena z replikacijsko nesposobno lentiviralno transdukcijo. Nastala poliklonalna celična populacija je bila vzdrževana pod selekcijo s puomicinom (1–5 µg/mL). Zahteva se varnostni razred S1. Ta klasifikacija velja le v Nemčiji in se drugod lahko razlikuje.

Biomolekularni podatki

Antigen expression	Luc2 (svetlobna mušica, kodonsko optimizirana)
--------------------	--

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (številka izdelka Cytion 820700a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase 10 minut pri 37 °C
Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Split ratio	1 do 3
Seeding density	1 do 3 x 10 ⁴ celic/cm ²

Celice HCC827-Luc | 305670

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Freeze medium Kot gojišče za krioprezervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 200 x g 5 minut, supernatant, ki vsebuje gojišče za zamrzovanje, previdno zavržite.
7. Izvedite postopek, opisan v poglavju Obnova po odmrzovanju

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Shipping Conditions Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza