

Клетки HCT116-Luc | 305787

Обща информация

Description

HCT 116-Luc е производна на човешката клетъчна линия HCT 116 за колоректален карцином, която експресира луцифераза. Линията е създадена чрез трансдукция с конструкция, кодираща луцифераза от светулка (*Photinus pyralis*), заедно с касета за резистентност към пурамицин (*pac*), така че експресията на репортера е конститутивна, а не зависи от метаболитен път. Следователно биолуминесцентният сигнал е пропорционален на броя на жизнеспособните клетки, което прави модела подходящ за неинвазивно проследяване на туморното натоварване *in vivo* и за бързо количествено определяне на клетъчната жизнеспособност и пролиферация *in vitro* чрез култивиране в плаки.

Родителската линия HCT 116 запазва своите характерни черти в този дериват, включително микросателитна нестабилност с дефицит на репарация на ДНК-несъответствия, TP53 от див тип и почти диплоиден кариотип. Мутационният ѝ фон включва KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, хетерозиготна мутация CTNNB1 p.Ser45del, която стабилизира β -катенина и стимулира конститутивно Wnt-сигнализиране, както и хомозиготни мутации с промяна на рамката в TGFBR2 и ACVR2A, типични за MSI колоректални тумори. Налице са допълнителни варианти в CDKN2A, EP300, BRCA2 и PPM1D. Стабилната интеграция на репортера позволява проследяване във времето на ортотопични и подкожни ксенографти при едно и също животно, което намалява размера на кохортите и премахва необходимостта от терминални крайни точки във всеки момент. За поддържане на трансгена по време на рутинното размножаване се използва селекция с пурамицин.

Тази линия се прилага широко в предклиничната онкология, в проучвания за ефикасност на цитотоксични и целеви агенти, в модели на метастазиране и насочване към тумора, както и в скрининг за цитотоксичност с висока производителност, където луминесцентните измервания предлагат по-широк динамичен диапазон в сравнение с колориметричните тестове. Тъй като експресията на луциферазата не се контролира чрез индукция, сигналът отразява броя на клетките и метаболитното състояние, а не активността на конкретен метаболитен път, така че съединенията, които променят нивата на АТФ или клетъчния метаболизъм, могат да повлияят на луминесценцията независимо от унищожаването на клетките. За потвърждение се препоръчват ортогонални тестове за жизнеспособност, а при интерпретирането на реакциите към агенти, увреждащи ДНК, и имуномодулиращи терапии трябва да се вземе предвид дефицитът на репарация на несъответствия в HCT 116.

Organism

Човек

Tissue

Дебело черво

Disease

Карцином на дебелото черво

Характеристики

Age

48 години

Gender

Мъжки

Клетки HCT116-Luc | 305787

Ethnicity Кавказки**Morphology** Подобни на епител**Growth properties** Придържащи се

Регулаторни данни

Citation HCT116-Luc (каталожен номер на Cytion 305787)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_C8WT

GMO Status GMO-S1: Тази клетъчна линия съдържа стабилно интегрирана репортерна касета с луцифераза от светулка (Luc2, кодон-оптимизирана), въведена чрез репликационно-некомпетентна лентивирусна трансдукция. Получената поликлонална клетъчна популация се поддържа при селекция с пурамицин (1–5 µg/mL). Необходимо е ниво на биологична безопасност S1. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Antigen expression Luc2 (светулка, с оптимизирани кодони)

Mutational profile Мутация: p.Lys437Argfs*5, хомозиготна; Мутация: p.Ile2675Aspfs*6, хетерозиготна; Мутация: p.Arg24Serfs*20, хетерозиготна; Мутация: p.Ser45del, хетерозиготна; Мутация: p.Met1470Cysfs*22, хетерозиготна; Мутация: p.Asn1700Thrfs*9, хетерозиготна; Мутация: p.Gly13Asp, хетерозиготна; Мутация: p.His1047Arg, хетерозиготна; Мутация: p.Leu450Ter, хетерозиготна; Мутация: p.Lys128Serfs*35, хомозиготна

Работа с

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L глюкоза, w: стабилен глутамин, w: 2,0 mM натриев пируват, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820200a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Клетки HCT116-Luc | 305787

Dissociation Reagent

Accutase

Seeding density $1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Freeze medium**

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Клетки HCT116-Luc | 305787

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, овлажнена атмосфера.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.