Product sheet

Buňky HCT116-GFP | 305649

Obecné informace

Description	HCT116-GFP je geneticky modifikovaný derivát lidské buněčné linie kolorektálního karcinomu HCT116, který byl upraven tak, aby konstitutivně exprimoval zelený fluorescenční protein (GFP). Původní linie HCT116 pochází z karcinomu tlustého střeva dospělého pacienta a je široce používána jako model kolorektálního karcinomu s deficitem opravy nesouladu (MMR-deficit). Cytogenetické analýzy ukázaly, že buňky HCT116 typicky vykazují téměř diploidní karyotyp s definovanými chromozomálními změnami, včetně strukturálních přestaveb a variací počtu kopií charakteristických pro kolorektální nádory s pozitivní mikrosatelitní nestabilitou. Zavedení reportérového genu GFP umožňuje vizualizaci buněčného chování v reálném čase, aniž by došlo k podstatné změně vnitřních genetických a fenotypových vlastností rodičovské linie. Značení GFP v buňkách HCT116-GFP se obvykle dosahuje stabilní transfekcí, což vede k jednotné fluorescenci, která usnadňuje zobrazování živých buněk, sledování buněk a kvantitativní analýzu proliferace, migrace a dynamiky růstu nádoru. Tato modifikace je obzvláště cenná v in vitro testech a v in vivo modelech xenotransplantátů, kde exprese GFP umožňuje neinvazivní sledování progrese nádoru, šíření metastáz a reakce na terapeutické zásahy. Přístupy k fenotypovému profilování založené na fluorescenci prokázaly, že buněčné linie rakoviny tlustého střeva, včetně HCT116, vykazují charakteristické intracelulární znaky, které lze zachytit pomocí metod založených na zobrazování, což podporuje užitečnost fluorescenčních reportérů, jako je GFP, pro aplikace vysoce obsažného screeningu. HCT116-GFP slouží jako spolehlivý nástroj pro zkoumání biologie kolorektálního karcinomu a umožňuje podrobnou analýzu chování nádorových buněk, interakcí s mikroprostředím a terapeutické účinnosti jak v kontextu základního, tak translačního výzkumu. **Genetická modifikace:** Stabilně modifikováno lentivirovou transdukcí neschopnou replikace tak, aby exprimovalo reportér zeleného fluorescenčního proteinu ZsGreen1; udržováno jako polyklonální populace pod selekcí puromycinem (1–5 µg/mL). Úroveň bezpečnosti S1/BSL-1.
Organism	Člověk
Tissue	Střeva
Disease	Karcinom tlustého střeva
Synonyms	HCT-116, HCT.116, HCT_116, HCT116, HCT116wt, HCT-116/P, HCT-116/rodičovský, CoCL2

Charakteristika

Age	48 let
Gender	Muži
Ethnicity	Kavkazský

Buňky HCT116-GFP | 305649

Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	HCT116-GFP (katalogové číslo Cytion 305649)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0291
GMO Status	GMO-S1: Tato buněčná linie obsahuje stabilně integrovaný reportérový gen zeleného fluorescenčního proteinu ZsGreen1, který byl zaveden pomocí lentivirové transdukce s neschopností replikace. Výsledná polyklonální buněčná populace byla udržována pod selekcí puromycinem (1–5 µg/ml). Je vyžadována bezpečnostní třída S1. Tato klasifikace platí pouze v Německu a v jiných zemích se může lišit.

Biomolekulární data

Antigen expression	ZsGreen1 (zelený fluorescenční protein)
Mutational profile	Mutace: p.Lys437Argfs*5, homozygotní; Mutace: p.Ile2675Aspfs*6, heterozygotní; Mutace: p.Arg24Serfs*20, heterozygotní; Mutace: p.Glu33Argfs*20, heterozygotní; Mutace: p.Asp74fs*21, heterozygotní; Mutace: p.Ser45del, heterozygotní; Mutace: p.Met1470Cysfs*22, heterozygotní; Mutace: p.Asn1700Thrfs*9, heterozygotní; Mutace: p.Gly13Asp, heterozygotní; Mutace: p.His1047Arg, heterozygotní; Mutace: p.Leu450Ter, heterozygotní; Mutace: p.Lys128Serfs*35, homozygotní

Zpracování

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilní glutamin, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO3 (číslo článku Cytion 820200a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	27 hodin; 17,1 hodiny; 22 hodin; 25,02 hodin; 36 hodin; 18,14 ± 0,051 hodin; ~25–48 hodin; 17,4 hodin; ~21 hodin

Buňky HCT116-GFP | 305649

Seeding density	2 až 4 x 10^{4} buněk/cm^{2}
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.
Thawing and Culturing Cells	1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty. 2. Po obdržení buď okamžitě uložte kryovialku při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace. 3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec. 4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem. 5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte. 6. Směs odstřeďujte při 200 x g po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte. 7. Postupujte podle postupu popsaného v části Obnova po rozmrazení
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza