

HCT116-Luc-celler | 305787

Generel information

Description

HCT 116-Luc er et luciferase-udtrykkende derivat af den humane kolorektale karcinomcellelinje HCT 116. Linjen blev genereret ved transduktion med et konstrukt, der koder for ildflue-luciferase fra *Photinus pyralis* sammen med en puromycinresistenskassette (*pac*), så reporterekspressionen er konstitutiv snarere end signalvejsafhængig. Det bioluminescerende signal er derfor proportionalt med antallet af levedygtige celler, hvilket gør modellen velegnet til ikke-invasiv sporing af tumorbyrden in vivo og til hurtig, pladebaseret kvantificering af cellernes levedygtighed og proliferation in vitro.

Den oprindelige HCT 116-linje bevarer sine karakteristiske træk i denne afledte linje, herunder mikrosatellitstabilitet med mangelfuld DNA-mismatch-reparation, vildtype TP53 og en næsten diploid karyotype. Dens mutationsbaggrund omfatter KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, en heterozygot CTNNB1 p.Ser45del, der stabiliserer β -catenin og fremmer konstitutiv Wnt-signaler, samt homozygote frameshift-mutationer i TGFBR2 og ACVR2A, som er typiske for MSI-kolorektale tumorer. Der forekommer yderligere varianter i CDKN2A, EP300, BRCA2 og PPM1D. Stabil integration af reportergenet muliggør langsgående billeddannelse af ortotope og subkutane xenotransplantater i det samme dyr, hvilket reducerer kohortstørrelserne og fjerner behovet for terminale endepunkter ved hvert tidspunkt. Puromycin-selektion anvendes til at opretholde transgenet under rutinemæssig ekspansion.

Denne linje anvendes i vid udstrækning i præklinisk onkologi, i effektstudier af cytotoxiske og målrettede midler, i modeller for metastaser og tumorhoming samt i højkapacitets-cytotoksicitetsscreening, hvor en luminescerende aflæsning giver et bredere dynamisk område end kolorimetriske assays. Da luciferase-ekspressionen ikke er under inducerbar kontrol, angiver signalet celleantal og metabolisk tilstand snarere end aktiviteten i en specifik signalvej, således at forbindelser, der ændrer ATP-niveauer eller cellulært stofskifte, kan påvirke luminescensen uafhængigt af celledrab. Orthogonale levedygtighedsanalyser anbefales til bekræftelse, og HCT 116-cellerne baggrund med manglende mismatch-reparation bør tages i betragtning ved fortolkningen af responser på DNA-skadende midler og immunmodulerende behandlinger.

Organism

Menneske

Tissue

Tarm

Disease

Tyktarms-karcinom

Karakteristika

Age

48 år

Gender

Mand

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Epitel-lignende

HCT116-Luc-celler | 305787

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation

HCT116-Luc (Cytion-katalognummer 305787)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_C8WT

GMO Status

GMO-S1: Denne cellelinje indeholder en stabilt integreret reporter-kassette med ildflue-luciferase (Luc2, kodonoptimeret), der er indført via replikationsinkompetent lentiviral transduktion. Den resulterende polyklonale cellepopulation blev opretholdt under puromycin-selektion (1–5 µg/mL). S1-indeslutning er påkrævet. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data

Antigen expression

Luc2 (ildflue, kodonoptimeret)

Mutational profile

Mutation: p.Lys437Argfs*5, homozygot; Mutation: p.Ile2675Aspfs*6, heterozygot; Mutation: p.Arg24Serfs*20, heterozygot; Mutation: p.Ser45del, heterozygot; Mutation: p.Met1470Cysfs*22, heterozygot; Mutation: p.Asn1700Thrfs*9, heterozygot; Mutation: p.Gly13Asp, heterozygot; Mutation: p.His1047Arg, heterozygot; Mutation: p.Leu450Ter, heterozygot; Mutation: p.Lys128Serfs*35, homozygot

Håndtering

Culture Medium

McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glukose, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820200a)

Supplements

Suppler mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Seeding density

 $1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$

HCT116-Luc-celler | 305787

Freeze medium

Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmokeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befugtet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HCT116-Luc-celler | 305787

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.