

HCT116-Luc-Zellen | 305787

Allgemeine Informationen

Description

HCT 116-Luc ist ein Luciferase-exprimierendes Derivat der menschlichen kolorektalen Karzinomzelllinie HCT 116. Die Zelllinie wurde durch Transduktion mit einem Konstrukt erzeugt, das für die Glühwürmchen-Luciferase von *Photinus pyralis* sowie für eine Puromycin-Resistenzkassette (*pac*) kodiert, sodass die Reporterexpression konstitutiv und nicht signalwegabhängig ist. Das Biolumineszenzsignal ist daher proportional zur Anzahl lebensfähiger Zellen, wodurch sich das Modell für die nicht-invasive Verfolgung der Tumorlast in vivo sowie für die schnelle, plattenbasierte Quantifizierung der Zellviabilität und -proliferation in vitro eignet.

Die ursprüngliche HCT-116-Linie behält in diesem Derivat ihre charakteristischen Merkmale bei, darunter Mikrosatelliteninstabilität mit defizitärer DNA-Mismatch-Reparatur, Wildtyp-TP53 und einen nahezu diploiden Karyotyp. Ihr Mutationshintergrund umfasst KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, eine heterozygote CTNNB1 p.Ser45del-Mutation, die β -Catenin stabilisiert und eine konstitutive Wnt-Signalübertragung antreibt, sowie homozygote Frameshift-Mutationen in TGFBR2 und ACVR2A, die typisch für MSI-Kolorektaltumoren sind. Weitere Varianten sind in CDKN2A, EP300, BRCA2 und PPM1D vorhanden. Die stabile Integration des Reporters ermöglicht die longitudinale Bildgebung von orthotopen und subkutanen Xenotransplantaten im selben Tier, wodurch die Kohortengrößen reduziert werden und die Notwendigkeit von Endpunkten zu jedem Zeitpunkt entfällt. Zur Aufrechterhaltung des Transgens während der routinemäßigen Vermehrung wird eine Puromycin-Selektion eingesetzt.

Diese Zelllinie findet breite Anwendung in der präklinischen Onkologie, in Wirkamkeitsstudien zu zytotoxischen und zielgerichteten Wirkstoffen, in Metastasierungs- und Tumor-Homing-Modellen sowie im Hochdurchsatz-Zytotoxizitäts-Screening, wo eine lumineszente Messung einen größeren dynamischen Bereich bietet als kolorimetrische Assays. Da die Luciferase-Expression nicht induzierbar gesteuert wird, gibt das Signal eher Aufschluss über die Zellzahl und den Stoffwechselzustand als über die Aktivität eines spezifischen Signalwegs; daher können Verbindungen, die den ATP-Spiegel oder den Zellstoffwechsel verändern, die Lumineszenz unabhängig von der Zellabtötung beeinflussen. Zur Bestätigung werden orthogonale Viabilitätsassays empfohlen, und bei der Interpretation der Reaktionen auf DNA-schädigende Wirkstoffe und immunmodulatorische Behandlungen sollte der Hintergrund der Mismatch-Reparatur-Defizienz von HCT 116 berücksichtigt werden.

Organism

Menschen

Tissue

Doppelpunkt

Disease

Kolonkarzinom

Merkmale

Age

48 Jahre

Gender

Männlich

Ethnicity

Kaukasisch

HCT116-Luc-Zellen | 305787**Morphology** Epithelähnlich**Growth properties** Adhärent**Regulatorische Daten****Citation** HCT116-Luc (Cytion-Katalognummer 305787)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_C8WT

GMO Status GMO-S1: Diese Zelllinie enthält eine stabil integrierte Firefly-Luciferase-Reporterkassette (Luc2, codonoptimiert), die mittels replikationsinkompetenter lentiviraler Transduktion eingeführt wurde. Die daraus resultierende polyklonale Zellpopulation wurde unter Puromycin-Selektion (1–5 µg/ml) kultiviert. Eine S1-Sicherheitsstufe ist erforderlich. Diese Einstufung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten**Antigen expression** Luc2 (Firefly, codonoptimiert)

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

Handhabung

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiles Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820200a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

HCT116-Luc-Zellen | 305787

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

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150°C , um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

HCT116-Luc-Zellen | 305787

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.