Product sheet

Κύτταρα HCT116-GFP | 305649

Γενικές πληροφορίες

Description	Το HCT116-GFP είναι ένα γενετικά τροποποιημένο παράγωγο της ανθρώπινης κυτταρικής σειράς καρκινώματος του παχέος εντέρου HCT116, το οποίο έχει σχεδιαστεί ώστε να εκφράζει συνεχώς πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (GFP). Η μητρική σειρά HCT116 προέρχεται από καρκίνωμα του παχέος εντέρου ενός ενήλικου ασθενούς και χρησιμοποιείται ευρέως ως μοντέλο καρκίνου του παχέος εντέρου με ανεπάρκεια επιδιόρθωσης αναντιστοιχιών (MMR-deficient). Κυτταρογενετικές αναλύσεις έχουν δείξει ότι τα κύτταρα HCT116 εμφανίζουν συνήθως έναν σχεδόν διπλοειδή καρυότυπο με καθορισμένες χρωμοσωμικές αλλοιώσεις, συμπεριλαμβανομένων δομικών αναδιατάξεων και παραλλαγών στον αριθμό αντιγράφων, χαρακτηριστικών των όγκων του παχέος εντέρου με θετική αστάθεια μικροδορυφόρων. Η εισαγωγή του γονιδίου αναφοράς GFP επιτρέπει την απεικόνιση της κυτταρικής συμπεριφοράς σε πραγματικό χρόνο χωρίς να αλλοιώνονται ουσιαστικά οι εγγενείς γενετικές και φαινοτυπικές ιδιότητες της γονικής σειράς. Η σήμανση με GFP στα κύτταρα HCT116-GFP επιτυγχάνεται συνήθως μέσω σταθερής μεταμόλυνσης, με αποτέλεσμα ομοιόμορφη φθορισμό που διευκολύνει την απεικόνιση ζωντανών κυττάρων, την παρακολούθηση των κυττάρων και την ποσοτική ανάλυση της πολλαπλασιαστικής δραστηριότητας, της μετανάστευσης και της δυναμικής ανάπτυξης του όγκου. Αυτή η τροποποίηση είναι ιδιαίτερα πολύτιμη σε δοκιμασίες in vitro και σε μοντέλα ξενομοσχεύματος in vivo, όπου η έκφραση της GFP επιτρέπει τη μη επεμβατική παρακολούθηση της εξέλιξης του όγκου, της μεταστατικής εξάπλωσης και της απόκρισης σε θεραπευτικές παρεμβάσεις. Οι προσεγγίσεις φαινοτυπικής χαρτογράφησης με βάση τη φθορισμό έχουν αποδείξει ότι οι κυτταρικές σειρές καρκίνου του παχέος εντέρου, συμπεριλαμβανομένης της HCT116, παρουσιάζουν διακριτά ενδοκυτταρικά χαρακτηριστικά που μπορούν να καταγραφούν μέσω μεθοδολογιών βασισμένων στην απεικόνιση, υποστηρίζοντας τη χρησιμότητα φθοριζόντων δεικτών όπως η GFP για εφαρμογές διαλογής υψηλού περιεχομένου. Το HCT116-GFP αποτελεί ένα αξιόπιστο εργαλείο για τη μελέτη της βιολογίας του καρκίνου του παχέος εντέρου, επιτρέποντας τη λεπτομερή ανάλυση της συμπεριφοράς των καρκινικών κυττάρων, των αλληλεπιδράσεων με το μικροπεριβάλλον και της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας τόσο στο πλαίσιο της βασικής όσο και της μεταφραστικής έρευνας. **Γενετική τροποποίηση:** Σταθερά τροποποιημένο μέσω μεταγωγής με ιό λεντιϊού ανίκανο προς αναπαραγωγή, ώστε να εκφράζει τον φθορίζοντα δείκτη πράσινης πρωτεΐνης ZsGreen1· διατηρείται ως πολυκλωνικός πληθυσμός υπό επιλογή με πουρομυκίνη (1–5 μg/mL). Επίπεδο περιορισμού S1/BSL-1.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Κόλον
Disease	Καρκίνωμα του παχέος εντέρου
Synonyms	HCT-116, HCT.116, HCT_116, HCT116, HCT116wt, HCT-116/P, HCT-116/parental, CoCL2

Χαρακτηριστικά

Age	48 χρόνια

Κύτταρα HCT116-GFP | 305649

Gender	Άντρας
Ethnicity	Καυκάσιος
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HCT116-GFP (αριθμός καταλόγου Cytion 305649)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0291
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά περιέχει έναν σταθερά ενσωματωμένο αναφορέα πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης ZsGreen1, ο οποίος εισήχθη μέσω λεντιϊκής μεταγωγής χωρίς ικανότητα αναπαραγωγής. Ο προκύπτων πολυκλωνικός κυτταρικός πληθυσμός διατηρήθηκε υπό επιλογή με πουρομυκίνη (1–5 μg/mL). Απαιτείται περιορισμός S1. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Antigen expression	ZsGreen1 (πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη)
Mutational profile	Μεταλλαγή: p.Lys437Argfs*5, ομόζυγη· Μεταλλαγή: p.Ile2675Aspfs*6, ετερόζυγη· Μεταλλαγή: p.Arg24Serfs*20, ετερόζυγη· Μεταλλαγή: p.Glu33Argfs*20, ετερόζυγη· Μεταλλαγή: p.Asp74fs*21, Ετερόζυγη; Μεταλλαγή: p.Ser45del, Ετερόζυγη; Μεταλλαγή: p.Met1470Cysfs*22, Ετερόζυγη; Μεταλλαγή: p.Asn1700Thrfs*9, Ετερόζυγη; Μεταλλαγή: p.Gly13Asp, Ετερόζυγη; Μεταλλαγή: p.His1047Arg, Ετερόζυγος; Μεταλλαγή: p.Leu450Ter, Ετερόζυγος; Μεταλλαγή: p.Lys128Serfs*35, Ομόζυγος

Χειρισμός

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/L γλυκόζη, w: σταθερή γλουταμίνη, w: 2,0 mM πυρουβικό νάτριο, w: 2,2 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820200a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Κύτταρα HCT116-GFP | 305649

Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	27 ώρες ; 17,1 ώρες ; 22 ώρες ; 25,02 ώρες ; 36 ώρες ; 18,14 ± 0,051 ώρες ; ~25-48 ώρες ; 17,4 ώρες ; ~21 ώρες
Seeding density	2 έως 4 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.
Thawing and Culturing Cells	1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά. 2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια. 3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου. 4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα. 5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά. 6. Φυγοκεντρήστε το μείγμα στα 200 x g για 5 λεπτά, απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το μέσο κατάψυξης. 7. Ακολουθήστε τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα Ανάκτηση μετά την απόψυξη
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Κύτταρα HCT116-GFP | 305649

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση