

Κύτταρα HCT116-Luc | 305787

Γενικές πληροφορίες

Description

Το HCT 116-Luc είναι ένα παράγωγο της ανθρώπινης κυτταρικής σειράς καρκινώματος του παχέος εντέρου HCT 116, το οποίο εκφράζει λουσιφεράση. Η σειρά δημιουργήθηκε μέσω μεταγωγής με ένα κατασκευάσμα που κωδικοποιεί τη λουσιφεράση της πυγολαμπίδας (*Photinus pyralis*) μαζί με μια κασέτα αντοχής στην πουρομυκίνη (*pac*), οπότε η έκφραση του δείκτη είναι συστατική και όχι εξαρτώμενη από μεταβολική οδό. Το βιοφωταυγές σήμα είναι επομένως ανάλογο με τον αριθμό των βιώσιμων κυττάρων, γεγονός που καθιστά το μοντέλο κατάλληλο για τη μη επεμβατική παρακολούθηση του όγκου του όγκου *in vivo* και για την ταχεία, βασισμένη σε πλάκα ποσοτικοποίηση της κυτταρικής βιωσιμότητας και του πολλαπλασιασμού *in vitro*.

Η γονική σειρά HCT 116 διατηρεί τα καθοριστικά χαρακτηριστικά της σε αυτό το παράγωγο, συμπεριλαμβανομένης της μικροδορυφορικής αστάθειας με ανεπαρκή επιδιόρθωση αναντιστοιχιών DNA, του TP53 άγριου τύπου και ενός σχεδόν διπλοειδούς καρυότυπου. Το μεταλλακτικό της υπόβαθρο περιλαμβάνει το KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, ένα ετερόζυγο CTNNB1 p.Ser45del που σταθεροποιεί τη β-κατενίνη και ενεργοποιεί τη συστατική σηματοδότηση Wnt, καθώς και ομόζυγες μεταλλάξεις μετατόπισης πλαισίου στα γονίδια TGFBR2 και ACVR2A, χαρακτηριστικές των MSI όγκων του παχέος εντέρου. Πρόσθετες παραλλαγές υπάρχουν στα γονίδια CDKN2A, EP300, BRCA2 και PPM1D. Η σταθερή ενσωμάτωση του αναφορέα επιτρέπει τη διαχρονική απεικόνιση ορθοτοπικών και υποδόριων ξενομοσχευμάτων στο ίδιο ζώο, μειώνοντας το μέγεθος των κοορτών και εξαλείφοντας την ανάγκη για τελικούς δείκτες σε κάθε χρονικό σημείο. Για τη διατήρηση του μεταγονιδίου κατά τη διάρκεια της συνήθους πολλαπλασιαστικής διαδικασίας χρησιμοποιείται επιλογή με πουρομυκίνη.

Αυτή η σειρά εφαρμόζεται ευρέως στην προκλινική ογκολογία, σε μελέτες αποτελεσματικότητας κυτταροτοξικών και στοχευμένων παραγόντων, σε μοντέλα μετάστασης και προσέλκυσης όγκων, καθώς και σε έλεγχο κυτταροτοξικότητας υψηλής απόδοσης, όπου η φωταυγής ένδειξη προσφέρει ευρύτερο δυναμικό εύρος από τις χρωματομετρικές αναλύσεις. Επειδή η έκφραση της λουσιφεράσης δεν τελεί υπό επαγωγικό έλεγχο, το σήμα αντανακλά τον αριθμό των κυττάρων και τη μεταβολική κατάσταση και όχι τη δραστηριότητα μιας συγκεκριμένης οδού, οπότε οι ενώσεις που μεταβάλλουν τα επίπεδα του ATP ή τον κυτταρικό μεταβολισμό μπορούν να επηρεάσουν τη φωταύγεια ανεξάρτητα από την κυτταρική καταστροφή. Συνιστώνται ορθογώνιες δοκιμασίες βιωσιμότητας για επιβεβαίωση, και θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη το υπόβαθρο ανεπάρκειας επιδιόρθωσης αναντιστοιχιών του HCT 116 κατά την ερμηνεία των αποκρίσεων σε παράγοντες που προκαλούν βλάβη στο DNA και σε ανοσορυθμιστικές θεραπείες.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Κόλον

Disease

Καρκίνωμα του παχέος εντέρου

Χαρακτηριστικά

Age

48 χρόνια

Gender

Άντρας

Κύτταρα HCT116-Luc | 305787

Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HCT116-Luc (αριθμός καταλόγου Cytion 305787)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C8WT
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά περιέχει μια σταθερά ενσωματωμένη κασέτα αναφοράς λουσιφεράσης πυγολαμπίδας (Luc2, με βελτιστοποιημένα κωδόνια), η οποία 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	Luc2 (πυγολαμπίδα, με βελτιστοποιημένα κωδόνια)
Mutational profile	Μετάλλαξη: p.Lys437Argfs*5, ομόζυγη· Μετάλλαξη: p.Ile2675Aspfs*6, ετερόζυγη· Μετάλλαξη: p.Arg24Serfs*20, ετερόζυγη· Μετάλλαξη: p.Ser45del, ετερόζυγη· Μετάλλαξη: p.Met1470Cysfs*22, ετερόζυγη· Μετάλλαξη: p.Asn1700Thrfs*9, ετερόζυγη· Μετάλλαξη: p.Gly13Asp, ετερόζυγο· Μετάλλαξη: p.His1047Arg, ετερόζυγο· Μετάλλαξη: p.Leu450Ter, ετερόζυγο· Μετάλλαξη: p.Lys128Serfs*35, ομόζυγη

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
Dissociation Reagent	Accutase

Κύτταρα HCT116-Luc | 305787**Seeding density** 1-3*10⁴/cm²**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.**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 φυγοκέντρωσης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Κύτταρα HCT116-Luc | 305787**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**Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.