

Células HCT116-Luc | 305787

Información general

Description

HCT 116-Luc es un derivado de la línea celular de carcinoma colorrectal humano HCT 116 que expresa luciferasa. La línea se generó mediante transducción con un constructo que codifica la luciferasa de la luciérnaga *Photinus pyralis* junto con un casete de resistencia a la puomicina (*pac*), por lo que la expresión del reportero es constitutiva y no depende de ninguna vía señalizadora. Por lo tanto, la señal bioluminiscente es proporcional al número de células viables, lo que hace que el modelo sea adecuado para el seguimiento no invasivo de la carga tumoral in vivo y para la cuantificación rápida, en placa, de la viabilidad y la proliferación celular in vitro.

La línea parental HCT 116 conserva sus características definitorias en este derivado, entre ellas la inestabilidad de microsatélites con reparación deficiente de desajustes de ADN, TP53 de tipo salvaje y un cariotipo casi diploide. Su fondo mutacional comprende KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, una delección heterocigótica en CTNNB1 p.Ser45del que estabiliza la β -catenina e induce una señalización Wnt constitutiva, y mutaciones homocigóticas con desplazamiento del marco de lectura en TGFBR2 y ACVR2A, típicas de los tumores colorrectales con MSI. Existen variantes adicionales en CDKN2A, EP300, BRCA2 y PPM1D. La integración estable del reportero permite la obtención de imágenes longitudinales de xenoinjertos ortotópicos y subcutáneos en el mismo animal, lo que reduce el tamaño de las cohortes y elimina la necesidad de criterios de valoración finales en cada punto temporal. Se utiliza la selección con puomicina para mantener el transgén durante la expansión rutinaria.

Esta línea se aplica ampliamente en oncología preclínica, en estudios de eficacia de agentes citotóxicos y dirigidos, en modelos de metástasis y de migración tumoral, y en cribados de citotoxicidad de alto rendimiento, donde una lectura luminiscente ofrece un rango dinámico más amplio que los ensayos colorimétricos. Dado que la expresión de la luciferasa no está bajo control inducible, la señal refleja el número de células y el estado metabólico, más que la actividad de una vía específica; por lo tanto, los compuestos que alteran los niveles de ATP o el metabolismo celular pueden afectar a la luminiscencia independientemente de la muerte celular. Se recomienda realizar ensayos ortogonales de viabilidad para la confirmación, y debe tenerse en cuenta la deficiencia en la reparación de desajustes de la línea celular HCT 116 a la hora de interpretar las respuestas a agentes que dañan el ADN y a tratamientos inmunomoduladores.

Organism	Humano
----------	--------

Tissue	Colon
--------	-------

Disease	Carcinoma de colon
---------	--------------------

Características

Age	48 años
-----	---------

Gender	Hombre
--------	--------

Ethnicity	Caucásico
-----------	-----------

Células HCT116-Luc | 305787

Morphology De tipo epitelial**Growth properties** Adherente

Datos reglamentarios

Citation HCT116-Luc (número de catálogo de Cytion: 305787)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_C8WT

GMO Status GMO-S1: Esta línea celular contiene un casete reportero de luciferasa de luciérnaga (Luc2, optimizado por codones) integrado de forma estable, introducido mediante transducción con lentivirus incompetentes para la replicación. La población celular policlonal resultante se mantuvo bajo selección con puromicina (1-5 µg/mL). Se requiere un nivel de contención S1. Esta clasificación solo es válida en Alemania y puede variar en otros países.

Datos biomoleculares

Antigen expression Luc2 (luciérnaga, optimizada por codones)

Mutational profile Mutación: p.Lys437Argfs*5, homocigótica; Mutación: p.Ile2675Aspfs*6, heterocigótica; Mutación: p.Arg24Serfs*20, heterocigótica; Mutación: p.Ser45del, heterocigótica; Mutación: p.Met1470Cysfs*22, heterocigótica; Mutación: p.Asn1700Thrfs*9, heterocigótica; Mutación: p.Gly13Asp, heterocigoto; Mutación: p.His1047Arg, heterocigoto; Mutación: p.Leu450Ter, heterocigoto; Mutación: p.Lys128Serfs*35, homocigoto

Manejo de

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucosa, w: Glutamina estable, w: 2,0 mM Piruvato sódico, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (número de artículo de Cytion 820200a)**Supplements** Complementar el medio con un 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Células HCT116-Luc | 305787

Seeding density 1-3*10⁴/cm²

Freeze medium Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células HCT116-Luc | 305787

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, colocar los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.