

HCT116-Luc-rakud | 305787

Üldine teave

Description

HCT 116-Luc on inimese kolorektaalse kartsinoomi rakuliini HCT 116 lucifereesi ekspresseeriv derivaat. Liin loodi transduktsiooni teel, kasutades konstrukti, mis kodeerib *Photinus pyralis*'e särakirbu lusiferase'i koos puromütsiiniresistentsuskassetiga (*pac*), mistõttu reportergeeni ekspressioon on konstitutiivne, mitte signaaliteest sõltuv. Seetõttu on bioluminestsentssignaal proportsionaalne eluvõimeliste rakkude arvuga, mis muudab selle mudeli sobivaks kasvajakoomuse mitteinvasiivseks jälgimiseks in vivo ning rakkude eluvõimelisuse ja proliferatsiooni kiireks, plaadil põhinevaks kvantifitseerimiseks in vitro.

Emaliin HCT 116 säilitab selles derivaadis oma iseloomulikud tunnused, sealhulgas mikrosatelliitide ebastabiilsuse koos puuduliku DNA-mismatch-parandusega, loodusliku tüüpi TP53 ja peaaegu diploidse kariotüübi. Selle mutatsioonitaust hõlmab KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, heterosügootne CTNNB1 p.Ser45del, mis stabiliseerib β -kateniini ja soodustab konstitutiivset Wnt-signaalimist, ning TGFBR2 ja ACVR2A homosügootsed raamimuutused, mis on iseloomulikud MSI-kolorektaaltuumoritele. Lisavariandid esinevad geenides CDKN2A, EP300, BRCA2 ja PPM1D. Reportergeeni stabiilne integreerimine võimaldab ortotopiliste ja subkutaansete ksenotransplantaatide pikaajalist pildistamist samal loomal, vähendades uuringurühma suurust ja kõrvaldades vajaduse lõpp-endpunktide järele igal ajamomendil. Transgeeni säilitamiseks rutiinse paljundamise ajal kasutatakse puromütsiini selektsiooni.

Seda liini kasutatakse laialdaselt prekliinilises onkoloogias, tsütotoksiliste ja sihtotstarbeliste ravimite efektiivsuse uuringutes, metastaasi- ja kasvajasse suundumise mudelites ning suure läbilaskevõimega tsütotoksilisuse sõelumisel, kus luminescentsmõõtmise pakub laiemat dünaamilist ulatust kui kolorimeetrilised analüüsid. Kuna lusiferase ekspressiooni ei reguleerita induktsiooni teel, näitab signaal pigem rakkude arvu ja ainevahetuse seisundit kui konkreetse signaalitee aktiivsust, mistõttu võivad ühendid, mis muudavad ATP taset või raku ainevahetust, mõjutada luminescentsi sõltumata rakkude hävitamisest. Kinnitamiseks soovitatakse kasutada ortogonaalseid eluvõimelisuse analüüse ning DNA-d kahjustavate ravimite ja immunomoduleerivate ravimeetodite suhtes saadud vastuseid tõlgendades tuleks arvesse võtta HCT 116 rakkude taustal esinevat mismatch-paranduse defitsiiti.

Organism

Inimene

Tissue

Colon

Disease

Jämesoole kartsinoom

Omadused

Age

48 aastat

Gender

Mees

Ethnicity

Kaukaasia

Morphology

Epiteelilaadsed

HCT116-Luc-rakud | 305787

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

HCT116-Luc (Cytioni katalooginumber 305787)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_C8WT

GMO Status

GMO-S1: See rakuliin sisaldab stabiilselt integreeritud tulikärbselucifereesi reporter-kasseti (Luc2, kodonoptimeeritud), mis on viidud sisse replikatsioonivõimega lentiiviruse transduktsiooni teel. Saadud polüklooniline rakupopulatsioon hoiti puromütsiini selektsiooni all (1–5 µg/ml). Nõutav on S1-ohutustase. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression

Luc2 (tulikärbes, kodonoptimeeritud)

Mutational profile

Mutatsioon: p.Lys437Argfs*5, homosügootne; mutatsioon: p.Ile2675Aspfs*6, heterosügootne; mutatsioon: p.Arg24Serfs*20, heterosügootne; Mutatsioon: p.Ser45del, heterosügootne; Mutatsioon: p.Met1470Cysfs*22, heterosügootne; Mutatsioon: p.Asn1700Thrfs*9, heterosügootne; Mutatsioon: p.Gly13Asp, heterosügootne; Mutatsioon: p.His1047Arg, heterosügootne; Mutatsioon: p.Leu450Ter, heterosügootne; Mutatsioon: p.Lys128Serfs*35, homosügootne

Töötlemine

Culture Medium

McCoy's 5a, w: 3,0 g/L glükoos, w: stabiilne glutamiin, w: 2,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820200a)

Supplements

Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent

Accutase

Seeding density

1–3 × 10⁴/cm²

HCT116-Luc-rakud | 305787**Freeze medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196°C juures. Säilitamine temperatuuril -80°C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

HCT116-Luc-rakud | 305787

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility

Mükoplasma kontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.