

HCT116-Luc-solut | 305787

Yleisiä tietoja

Description

HCT 116-Luc on ihmisen paksusuolisyöpäsolulinjan HCT 116:n johdannainen, joka ilmentää lusiferaasia. Linja tuotettiin transduktiolla, jossa käytettiin *Photinus pyralis* -lajin tulikärpäsän lusiferaasia koodaavaa konstruktia yhdessä puromysiiniresistenssikassetin (*pac*) kanssa, joten raportointigeenin ilmentyminen on konstitutiivista eikä reitistä riippuvaa. Bioluminesenssisignaali on siten verrannollinen elävien solujen lukumäärään, minkä ansiosta malli soveltuu kasvaimen kuormituksen ei-invasiiviseen seurantaan in vivo sekä solujen elinkelpoisuuden ja proliferaation nopeaan, maljalla tehtävään kvantifiointiin in vitro.

Alkuperäinen HCT 116 -linja säilyttää tässä johdannaisessa sen tunnusomaiset piirteet, mukaan lukien mikrosatelliittien epävakaas ja puutteellinen DNA:n virhekorjaus, villityypin TP53 sekä lähes diploidinen karyotyyppi. Sen mutaatiotausta koostuu KRAS p.Gly13Asp:sta, PIK3CA p.His1047Arg, heterotsygoottinen CTNNB1 p.Ser45del -mutaatio, joka stabiloi β -kateniinin ja ajaa konstitutiivista Wnt-signaalia, sekä TGFBR2- ja ACVR2A-geeneissä esiintyvät homotsygoottiset frameshift-mutaatiot, jotka ovat tyypillisiä MSI-kolorektaalisiin kasvaimiin. Lisävariantteja esiintyy geeneissä CDKN2A, EP300, BRCA2 ja PPM1D. Raportoijan vakaa integraatio mahdollistaa ortotopisten ja subkutaanisten ksenotransplantaattien pitkittäiskuvantamisen samassa eläimessä, mikä pienentää kohorttikokoja ja poistaa tarpeen määrittää lopullisia päätepisteitä jokaisessa aikapisteessä. Puromysiiniselektiota käytetään transgeenin ylläpitämiseen rutiinisen laajennuksen aikana.

Tätä linjaa käytetään laajalti prekliinisessä onkologiassa, sytotoksisten ja kohdennettujen lääkeaineiden tehotutkimuksissa, etäpesäke- ja kasvaimen homing-malleissa sekä suurikapasiteettisessa sytotoksisuusseulonnassa, jossa luminesenssimittaus tarjoaa laajemman dynaamisen alueen kuin kolorimetriset määrytykset. Koska lusiferaasin ilmentymistä ei voida säätää induktiivisesti, signaali kertoo solujen lukumäärästä ja metabolisesta tilasta pikemminkin kuin tietyn reitin aktiivisuudesta, joten yhdisteet, jotka muuttavat ATP-tasoa tai solujen aineenvaihduntaa, voivat vaikuttaa luminesenssiin riippumatta solujen tuhoamisesta. Vahvistusta varten suositellaan ortogonaalisia elinkykuanalyysijä, ja HCT 116 -solulinjan puutteellista mismatch-korjauskykyä tulisi ottaa huomioon tulkittaessa vasteita DNA:ta vaurioittaviin aineisiin ja immunomoduloiviin hoitoihin.

Organism Ihminen

Tissue Paksusuoli

Disease Paksusuolen syöpä

Ominaisuudet

Age 48 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Kaukasialainen

Morphology Epiteelin kaltainen

HCT116-Luc-solut | 305787

Growth properties

Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation

HCT116-Luc (Cytion-tuotenumero 305787)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_C8WT

GMO Status

GMO-S1: Tämä solulinja sisältää vakaasti integroidun tulikärpäsän lusiferaasi-raportointikasetin (Luc2, kodonien suhteen optimoitu), joka on tuotu soluihin replikaatiokyvyttömän lentiviruksen välityksellä. Tuloksena saatu polyklonaalinen solupopulaatio ylläpidettiin puromysiiniselektiossa (1–5 µg/ml). S1-turvaluokitus vaaditaan. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.

Biomolekyylytiedot

Antigen expression

Luc2 (tulikärpäsän, kodonoptimoitu)

Mutational profile

Mutaatio: p.Lys437Argfs*5, homotsygootti; Mutaatio: p.Ile2675Aspfs*6, heterotsygootti; Mutaatio: p.Arg24Serfs*20, heterotsygootti; Mutaatio: p.Ser45del, heterotsygootti; Mutaatio: p.Met1470Cysfs*22, heterotsygootti; Mutaatio: p.Asn1700Thrfs*9, heterotsygootti; Mutaatio: p.Gly13Asp, heterotsygootti; Mutaatio: p.His1047Arg, heterotsygootti; Mutaatio: p.Leu450Ter, heterotsygootti; Mutaatio: p.Lys128Serfs*35, homotsygootti

Käsittely

Culture Medium

McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukosia, w: vakaa glutamiini, w: 2,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820200a)

Supplements

Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent

Accutase

Seeding density

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

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

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäätä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HCT116-Luc-solut | 305787

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.