

Cellules HCT116-Luc | 305787

Informations générales

Description

HCT 116-Luc est un dérivé de la lignée cellulaire HCT 116, issue d'un carcinome colorectal humain, qui exprime la luciférase. Cette lignée a été générée par transduction à l'aide d'un construct codant pour la luciférase de la luciole *Photinus pyralis*, associé à une cassette de résistance à la puromycine (*pac*) ; l'expression du rapporteur est donc constitutive et non dépendante d'une voie métabolique. Le signal bioluminescent est donc proportionnel au nombre de cellules viables, ce qui rend ce modèle adapté au suivi non invasif de la charge tumorale in vivo et à la quantification rapide, sur plaque, de la viabilité et de la prolifération cellulaires in vitro.

La lignée parentale HCT 116 conserve ses caractéristiques distinctives dans cette lignée dérivée, notamment l'instabilité microsatellitaire associée à un déficit de réparation des mésappariements de l'ADN, un gène TP53 de type sauvage et un caryotype quasi-diploïde. Son profil mutationnel comprend KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, une mutation hétérozygote CTNNB1 p.Ser45del qui stabilise la β -caténine et induit une signalisation Wnt constitutive, ainsi que des mutations homozygotes par décalage du cadre de lecture dans TGFBR2 et ACVR2A, typiques des tumeurs colorectales à MSI. D'autres variants sont présents dans les gènes CDKN2A, EP300, BRCA2 et PPM1D. L'intégration stable du gène rapporteur permet l'imagerie longitudinale de xénogreffes orthotopiques et sous-cutanées chez un même animal, ce qui réduit la taille des cohortes et élimine la nécessité de critères d'évaluation finaux à chaque point de temps. La sélection par la puromycine est utilisée pour maintenir le transgène au cours de l'expansion de routine.

Cette lignée est largement utilisée en oncologie préclinique, dans les études d'efficacité d'agents cytotoxiques et ciblés, dans les modèles de métastases et de homing tumoral, ainsi que dans le criblage de cytotoxicité à haut débit où une mesure luminescente offre une plage dynamique plus large que les tests colorimétriques.

L'expression de la luciférase n'étant pas sous contrôle inductible, le signal reflète le nombre de cellules et l'état métabolique plutôt que l'activité d'une voie spécifique ; ainsi, les composés qui modifient les niveaux d'ATP ou le métabolisme cellulaire peuvent affecter la luminescence indépendamment de la destruction cellulaire. Des tests de viabilité orthogonaux sont recommandés à des fins de confirmation, et il convient de tenir compte du déficit en réparation des mésappariements de la lignée HCT 116 lors de l'interprétation des réponses aux agents endommageant l'ADN et aux traitements immunomodulateurs.

Organism Humain

Tissue Colon

Disease Carcinome du côlon

Caractéristiques

Age 48 ans

Gender Homme

Ethnicity Caucasien

Morphology De type épithélial

Cellules HCT116-Luc | 305787

Growth properties	Adhérent
--------------------------	----------

Données réglementaires

Citation	HCT116-Luc (référence Cytion 305787)
-----------------	--------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_C8WT
-----------------------------	-----------

GMO Status	GMO-S1 : Cette lignée cellulaire contient une cassette de rapporteur à base de luciférase de luciole (Luc2, optimisée au niveau des codons) intégrée de manière stable, introduite par transduction lentivirale à réplication incompétente. La population cellulaire polyclonale ainsi obtenue a été maintenue sous sélection à la puromycine (1 à 5 µg/mL). Un confinement de niveau S1 est requis. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut varier dans d'autres pays.
-------------------	---

Données biomoléculaires

Antigen expression	Luc2 (firefly, optimisé au niveau des codons)
---------------------------	---

Mutational profile	Mutation : p.Lys437Argfs*5, homozygote ; Mutation : p.Ile2675Aspfs*6, hétérozygote ; Mutation : p.Arg24Serfs*20, hétérozygote ; Mutation : p.Ser45del, hétérozygote ; Mutation : p.Met1470Cysfs*22, hétérozygote ; Mutation : p.Asn1700Thrfs*9, hétérozygote ; Mutation : p.Gly13Asp, hétérozygote ; Mutation : p.His1047Arg, hétérozygote ; Mutation : p.Leu450Ter, hétérozygote ; Mutation : p.Lys128Serfs*35, homozygote
---------------------------	---

Manipulation

Culture Medium	McCoy's 5a, w : 3.0 g/L Glucose, w : Glutamine stable, w : 2.0 mM Pyruvate de sodium, w : 2.2 g/L NaHCO ₃ (numéro d'article Cytion 820200a)
-----------------------	--

Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
--------------------	-------------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Seeding density	1-3 × 10 ⁴ /cm ²
------------------------	--

Cellules HCT116-Luc | 305787

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules HCT116-Luc | 305787

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.