

HCT116-Luc sejtek | 305787

Általános információk

Description

Az HCT 116-Luc az emberi kolorektális karcinóma sejtvonal, az HCT 116 luciferázt expresszáló származéka. A vonalat a *Photinus pyralis*-ből származó szentjánosbogár-luciferázt kódoló konstrukcióval, valamint egy puromicin-rezisztencia-kazettával (*pac*) történő transzdukcióval hozták létre, így a riporter expressziója konstitutív, nem pedig jelátviteli útvonal-függő. A biolumineszcens jel ezért arányos az életképes sejtek számával, ami alkalmassá teszi a modellt a tumorterhelés in vivo, nem invazív nyomon követésére, valamint a sejtek életképességének és proliferációjának in vitro, lemezen végzett gyors kvantifikálására.

Az eredeti HCT 116-vonal megőrizte jellegzetes tulajdonságait ebben a származékban, beleértve a mikroszatellit-instabilitást a hiányos DNS-mismatch-javítással, a vad típusú TP53-at és a közel diploid kariotípust. Mutációs hátterét a KRAS p.Gly13Asp, a PIK3CA p.His1047Arg mutációt, egy heterozigóta CTNNB1 p.Ser45del mutációt, amely stabilizálja a β -katenint és konstitutív Wnt-jelátvitelt vált ki, valamint a TGFB2-ben és az ACVR2A-ban előforduló homozigóta kereteltolódási mutációkat, amelyek jellemzőek az MSI-típusú kolorektális daganatokra. További variánsok találhatók a CDKN2A, EP300, BRCA2 és PPM1D génekben. A riporter stabil integrációja lehetővé teszi az ortotópos és szubkután xenotranszplantátumok longitudinális képalkotását ugyanazon állatban, ami csökkenti a kohort méretét, és feleslegessé teszi a végpontértékek minden időpontban történő meghatározását. A transzgén fenntartására a rutin szaporítás során puromicin-szelekciót alkalmaznak.

Ezt a vonalat széles körben alkalmazzák a preklinikai onkológiában, citotoxikus és célzott szerek hatékonysági vizsgálataiban, metasztázis- és tumorhoming-modellekben, valamint nagy áteresztőképességű citotoxicitási szűrésekben, ahol a lumineszcens jelzés szélesebb dinamikatartományt kínál, mint a kolorimetrikus vizsgálatok. Mivel a luciferáz expressziója nem áll indukálható szabályozás alatt, a jel inkább a sejtszámot és az anyagcsere-állapotot jelzi, mint egy adott útvonal aktivitását; így az ATP-szintet vagy a sejt anyagcserét megváltoztató vegyületek a sejtpusztítástól függetlenül is befolyásolhatják a lumineszcenciát. A megerősítéshez ortogonális életképességi vizsgálatok elvégzése ajánlott, és a DNS-károsító szerekre és az immunmoduláló kezelésekre adott válaszok értelmezésekor figyelembe kell venni a HCT 116 sejtvonal mismatch-javítási hiányosságát.

Organism

Emberi

Tissue

Vastagbél

Disease

Vastagbélrák

Jellemzők

Age

48 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Epithelszerű

HCT116-Luc sejtek | 305787

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

HCT116-Luc (Cytion katalógusszám: 305787)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_C8WT

GMO Status

GMO-S1: Ez a sejtvonal egy stabilan integrált szentjánosbogár-luciferáz riporterkazettát (Luc2, kodonoptimalizált) tartalmaz, amelyet replikációra képtelen lentivirális transzdukcióval juttattak be. A kapott poliklonális sejtpopulációt puromicin-szelekció (1–5 µg/mL) mellett tartották fenn. S1-es biztonsági besorolás szükséges. Ez a besorolás kizárólag Németország területén érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

Antigen expression

Luc2 (szentjánosbogár, kodonoptimalizált)

Mutational profile

Mutáció: p.Lys437Argfs*5, homozigóta; Mutáció: p.Ile2675Aspfs*6, heterozigóta; Mutáció: p.Arg24Serfs*20, heterozigóta; Mutáció: p.Ser45del, heterozigóta; Mutáció: p.Met1470Cysfs*22, heterozigóta; Mutáció: p.Asn1700Thrfs*9, heterozigóta; Mutáció: p.Gly13Asp, heterozigóta; Mutáció: p.His1047Arg, heterozigóta; Mutáció: p.Leu450Ter, heterozigóta; Mutáció: p.Lys128Serfs*35, homozigóta

A kezelése

Culture Medium

McCoy's 5a, w: 3,0 g/L glükóz, w: stabil glutamin, w: 2,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion cikkszám: 820200a)

Supplements

A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent

Accutase

Seeding density

1–3 × 10⁴/cm²

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

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítjük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtsuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HCT116-Luc sejtek | 305787

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.