

Sel HCT116-Luc | 305787

Informasi umum

Description

HCT 116-Luc adalah turunan dari garis sel karsinoma kolorektal manusia HCT 116 yang mengekspresikan luciferase. Garis sel ini dihasilkan melalui transduksi dengan konstruksi yang mengkodekan luciferase kunang-kunang dari *Photinus pyralis* bersama dengan kaset resistensi puromisin (*pac*), sehingga ekspresi reporter bersifat konstitutif dan bukan bergantung pada jalur tertentu. Oleh karena itu, sinyal bioluminesensi sebanding dengan jumlah sel yang masih hidup, yang menjadikan model ini cocok untuk pelacakan beban tumor secara non-invasif in vivo serta untuk kuantifikasi cepat viabilitas dan proliferasi sel secara in vitro menggunakan pelat.

Baris induk HCT 116 mempertahankan ciri-cirinya yang khas dalam turunan ini, termasuk ketidakstabilan mikrosatelit dengan defisiensi perbaikan ketidaksesuaian DNA, TP53 tipe liar, dan kariotipe yang mendekati diploid. Latar belakang mutasinya terdiri dari KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, mutasi heterozigot CTNNB1 p.Ser45del yang menstabilkan β -catenin dan mendorong sinyal Wnt konstitutif, serta mutasi frameshift homozigot pada TGFBR2 dan ACVR2A yang khas pada tumor kolorektal MSI. Varian tambahan terdapat pada gen CDKN2A, EP300, BRCA2, dan PPM1D. Integrasi stabil reporter ini memungkinkan pencitraan longitudinal pada xenograft ortotopik dan subkutan pada hewan yang sama, sehingga mengurangi ukuran kohort dan menghilangkan kebutuhan akan titik akhir (terminal endpoint) pada setiap titik waktu. Seleksi puromisin digunakan untuk mempertahankan transgen selama ekspansi rutin.

Garis sel ini banyak diterapkan dalam onkologi praklinis, dalam studi kemanjuran agen sitotoksik dan bertarget, dalam model metastasis dan homing tumor, serta dalam skrining sitotoksitas berkapasitas tinggi di mana pembacaan luminesen menawarkan rentang dinamis yang lebih luas daripada uji kolorimetrik. Karena ekspresi luciferase tidak berada di bawah kendali induksi, sinyal tersebut melaporkan jumlah sel dan status metabolik, bukan aktivitas jalur tertentu; sehingga senyawa yang mengubah tingkat ATP atau metabolisme seluler dapat memengaruhi luminesensi secara independen dari pembunuhan sel. Uji viabilitas ortogonal direkomendasikan untuk konfirmasi, dan latar belakang defisiensi perbaikan ketidakcocokan (mismatch repair) pada HCT 116 harus dipertimbangkan saat menafsirkan respons terhadap agen perusak DNA dan pengobatan imunomodulator.

Organism

Manusia

Tissue

Usus besar

Disease

Karsinoma usus besar

Karakteristik

Age

48 tahun

Gender

Laki-laki

Ethnicity

Kaukasia

Morphology

Seperti epitel

Sel HCT116-Luc | 305787

Growth properties	Patuh
--------------------------	-------

Data Peraturan

Citation	HCT116-Luc (nomor katalog Cytion 305787)
-----------------	--

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

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

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

GMO Status	GMO-S1: Garis sel ini mengandung kaset pelapor luciferase kunang-kunang (Luc2, yang telah dioptimalkan kodonnya) yang terintegrasi secara stabil, yang dimasukkan melalui transduksi lentiviral yang tidak mampu bereplikasi. Populasi sel poliklonal yang dihasilkan dipertahankan di bawah seleksi puromisin (1–5 µg/mL). Diperlukan tingkat pengamanan S1. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di negara lain.
-------------------	---

Data Biomolekuler

Antigen expression	Luc2 (lampu kunang-kunang, dioptimalkan berdasarkan kodon)
---------------------------	--

Mutational profile	Mutasi: p.Lys437Argfs*5, homozigot; Mutasi: p.Ile2675Aspfs*6, heterozigot; Mutasi: p.Arg24Serfs*20, heterozigot; Mutasi: p.Ser45del, Heterozigot; Mutasi: p.Met1470Cysfs*22, Heterozigot; Mutasi: p.Asn1700Thrfs*9, Heterozigot; Mutasi: p.Gly13Asp, Heterozigot; Mutasi: p.His1047Arg, Heterozigot; Mutasi: p.Leu450Ter, Heterozigot; Mutasi: p.Lys128Serfs*35, Homozigot
---------------------------	--

Penanganan

Culture Medium	McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glukosa, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natrium piruvat, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ (Nomor artikel Cytion 820200a)
-----------------------	---

Supplements	Tambahkan media dengan 10% FBS
--------------------	--------------------------------

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

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

Sel HCT116-Luc | 305787

Freeze medium

Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembabkan.

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel HCT116-Luc | 305787

**Storage
Conditions**

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Pengendalian Mutu & Analisis Molekuler

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.