

Cellule HCT116-Luc | 305787

Informazioni generali

Description

HCT 116-Luc è un derivato della linea cellulare HCT 116, derivata dal carcinoma coloretale umano, che esprime la luciferasi. La linea è stata generata mediante trasduzione con un costrutto che codifica la luciferasi di lucciola proveniente da *Photinus pyralis* insieme a una cassetta di resistenza alla puomicina (*pac*), pertanto l'espressione del reporter è costitutiva piuttosto che dipendente dalla via di segnalazione. Il segnale bioluminescente è quindi proporzionale al numero di cellule vitali, il che rende il modello adatto al monitoraggio non invasivo del carico tumorale in vivo e alla quantificazione rapida, su piastra, della vitalità e della proliferazione cellulare in vitro.

La linea parentale HCT 116 conserva le sue caratteristiche distintive in questo derivato, tra cui l'instabilità dei microsatelliti con riparazione del mismatch del DNA carente, TP53 wild-type e un cariotipo quasi diploide. Il suo background mutazionale comprende KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, un CTNNB1 p.Ser45del eterozigote che stabilizza la β -catenina e stimola la segnalazione Wnt costitutiva, nonché mutazioni omozigoti con spostamento del quadro di lettura in TGFBR2 e ACVR2A, tipiche dei tumori coloretali con MSI. Sono presenti ulteriori varianti in CDKN2A, EP300, BRCA2 e PPM1D. L'integrazione stabile del reporter consente l'imaging longitudinale di xenotrapianti ortotopici e sottocutanei nello stesso animale, riducendo le dimensioni delle coorti ed eliminando la necessità di endpoint terminali in ciascun punto temporale. La selezione con puomicina viene utilizzata per mantenere il transgene durante l'espansione di routine.

Questa linea è ampiamente utilizzata nell'oncologia preclinica, negli studi di efficacia di agenti citotossici e mirati, nei modelli di metastasi e di homing tumorale, nonché nello screening di citotossicità ad alta produttività, dove una lettura luminescente offre un intervallo dinamico più ampio rispetto ai test colorimetrici. Poiché l'espressione della luciferasi non è sotto controllo inducibile, il segnale riflette il numero di cellule e lo stato metabolico piuttosto che l'attività di una via specifica; pertanto, i composti che alterano i livelli di ATP o il metabolismo cellulare possono influenzare la luminescenza indipendentemente dalla lisi cellulare. Si raccomandano saggi ortogonali di vitalità per la conferma, e si dovrebbe tenere conto del background di deficit nella riparazione dei mismatch della linea cellulare HCT 116 nell'interpretazione delle risposte agli agenti che danneggiano il DNA e ai trattamenti immunomodulatori.

Organism Umano

Tissue Colon

Disease Carcinoma del colon

Caratteristiche

Age 48 anni

Gender Uomo

Ethnicity Caucasico

Morphology Simile all'epitelio

Cellule HCT116-Luc | 305787

Growth properties	Aderente
--------------------------	----------

Dati normativi

Citation	HCT116-Luc (codice catalogo Cytion 305787)
-----------------	--

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

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

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

GMO Status	GMO-S1: Questa linea cellulare contiene una cassetta reporter della luciferasi di lucciola (Luc2, ottimizzata a livello di codoni) integrata in modo stabile, introdotta tramite trasduzione lentivirale a replicazione incompetente. La popolazione cellulare policlonale risultante è stata mantenuta sotto selezione con puromicina (1–5 µg/mL). È richiesto il contenimento di classe S1. Questa classificazione è valida solo in Germania e potrebbe differire in altri paesi.
-------------------	---

Dati biomolecolari

Antigen expression	Luc2 (lucciola, ottimizzata a livello di codoni)
---------------------------	--

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

Manipolazione

Culture Medium	McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glucosio, w: Glutamina stabile, w: 2,0 mM Sodio piruvato, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820200a)
-----------------------	---

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
--------------------	---

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

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

Cellule HCT116-Luc | 305787

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule HCT116-Luc | 305787

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.