

HCT116-Luc ląstelės | 305787

Bendra informacija

Description

HCT 116-Luc yra žmogaus storosios žarnos karcinomos ląstelių linijos HCT 116 atmaina, kurioje ekspresuojama liuciferazė. Linija buvo sukurta transdukcijos būdu, naudojant konstrukta, koduojantį *Photinus pyralis* ugnies skruzdės liuciferazę kartu su puromicino atsparumo kasete (*pac*), todėl reporterio ekspresija yra konstitucinė, o ne priklausoma nuo signalo perdavimo kelio. Todėl bioluminescencinis signalas yra proporcingas gyvybingų ląstelių skaičiui, o tai leidžia šį modelį naudoti neinvaziamam naviko apkrovos stebėjimui in vivo bei greitam, lėkštelėse atliekamam ląstelių gyvybingumo ir proliferacijos kiekybiniam vertinimui in vitro.

Pirminė HCT 116 linija šiame dariniame išlaiko savo pagrindines savybes, įskaitant mikrosatelitų nestabilumą su nepakankama DNR nesutapimų taisymo funkcija, laukinio tipo TP53 ir beveik diploidinį kariotipą. Jos mutacijų foną sudaro KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, heterozigotinę CTNNB1 p.Ser45del mutaciją, kuri stabilizuoja β-kateniną ir skatina nuolatinį Wnt signalizavimą, bei homozigotines TGFBR2 ir ACVR2A rėmo poslinkio mutacijas, būdingas MSI kolorektaliniams navikams. Papildomi variantai aptinkami CDKN2A, EP300, BRCA2 ir PPM1D genuose. Stabilus reporterio integravimas leidžia atlikti ortotopinių ir poodinių ksenotransplantatų ilgalaikį vaizdinimą tame pačiame gyvūne, taip sumažinant kohortų dydį ir pašalinant būtinybę nustatyti galutinius rodiklius kiekvienu laiko momentu. Puromicino atranka naudojama transgeniui išlaikyti įprasto dauginimo metu.

Ši linija plačiai taikoma ikiklinikinėje onkologijoje, citotoksinių ir tikslinio veikimo vaistų veiksmingumo tyrimuose, metastazių ir navikų migracijos modeliuose, taip pat didelio našumo citotoksiškumo atrankoje, kur liuminescencinis rodmuo suteikia platesnį dinaminį diapazoną nei kolorimetriniai tyrimai. Kadangi liuciferazės ekspresija nėra indukuojama, signalas rodo ląstelių skaičių ir metabolinę būklę, o ne konkretaus metabolinio kelio aktyvumą, todėl junginiai, keičiantys ATP lygį ar ląstelių metabolizmą, gali paveikti liuminescenciją nepriklausomai nuo ląstelių žudymo. Patvirtinimui rekomenduojami ortogoniniai gyvybingumo tyrimai, o interpretuojant reakcijas į DNR pažeidžiančius preparatus ir imunomoduliuojančius gydymus, reikėtų atsižvelgti į HCT 116 ląstelių foninį defektą, susijusį su nesutampančių porų taisymo trūkumu.

Organism

Žmogus

Tissue

Storosios žarnos

Disease

Storosios žarnos karcinoma

Charakteristikos

Age

48 metai

Gender

Vyras

Ethnicity

Kaukaziečių

Morphology

Į epitelį panašus

HCT116-Luc ląstelės | 305787

Growth properties

Priglundės

Reguliavimo duomenys

Citation

HCT116-Luc (Cytion katalogo numeris 305787)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_C8WT

GMO Status

GMO-S1: Šioje ląstelių linijoje yra stabiliai integruota jonvabalių liuciferazės reporterinė kasetė (Luc2, kodonų atžvilgiu optimizuota), įterpta naudojant replikacijos nesugebančią lentivirusinę transdukciją. Gauta polikloninė ląstelių populiacija buvo išlaikyta atliekant selekciją puromicinu (1–5 µg/mL). Reikalaujamas S1 saugumo lygis. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Antigen expression

Luc2 (vabalas, kodonų optimizuotas)

Mutational profile

Mutacija: p.Lys437Argfs*5, homozigotinė; Mutacija: p.Ile2675Aspfs*6, heterozigotinė; Mutacija: p.Arg24Serfs*20, heterozigotinė; Mutacija: p.Ser45del, heterozigotinė; Mutacija: p.Met1470Cysfs*22, heterozigotinė; Mutacija: p.Asn1700Thrfs*9, heterozigotinė; Mutacija: p.Gly13Asp, heterozigotinė; Mutacija: p.His1047Arg, heterozigotinė; Mutacija: p.Leu450Ter, heterozigotinė; Mutacija: p.Lys128Serfs*35, homozigotinė

Tvarkymas

Culture Medium

McCoy's 5a, w: 3,0 g/l gliukozės, w: stabilus glutaminas, w: 2,0 mM natrio piruvatas, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820200a)

Supplements

Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Seeding density

1–3 × 10⁴/cm²

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

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HCT116-Luc ląstelės | 305787

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.