

HCT116-GFP šūnas | 305649

Vispārīga informācija

Description

HCT116-GFP ir ģenētiski modificēts cilvēka kolorektālās karcinomas šūnu līnijas HCT116 atvasinājums, kas izveidots, lai pastāvīgi ekspresētu zaļo fluorescējošo proteīnu (GFP). Sākotnējā HCT116 līnija ir iegūta no pieauguša pacienta resnās zarnas karcinomas un tiek plaši izmantota kā modelis kolorektālajam vēzim ar defektīvu nesakrītības reparāciju (MMR deficītu). Citogenētiskās analīzes ir parādījušas, ka HCT116 šūnas parasti izrāda gandrīz diploīdu kariotipu ar noteiktām hromosomu izmaiņām, tostarp strukturālām pārkārtošanām un kopiju skaita variācijām, kas raksturīgas mikrosatelītu nestabilitātes pozitīviem kolorektālajiem audzējiem. GFP reportergēna ieviešana ļauj reāllaikā vizualizēt šūnu uzvedību, būtiski nemainot vecāku līnijas iekšējās ģenētiskās un fenotipiskās īpašības.

GFP marķēšana HCT116-GFP šūnās parasti tiek panākta ar stabilas transfekcijas palīdzību, rezultātā iegūstot vienmērīgu fluorescenci, kas atvieglo dzīvo šūnu attēlveidošanu, šūnu izsekošanu un proliferācijas, migrācijas un audzēja augšanas dinamikas kvantitatīvo analīzi. Šī modifikācija ir īpaši vērtīga in vitro testos un in vivo ksenotransplantātu modeļos, kur GFP ekspresija ļauj neinvazīvi uzraudzīt audzēja progresēšanu, metastāžu izplatību un reakciju uz terapeitiskām intervencēm. Uz fluorescenci balstītas fenotipiskās profilēšanas pieejas ir parādījušas, ka resnās zarnas vēža šūnu līnijas, tostarp HCT116, izrāda atšķirīgas intracelulāras pazīmes, kuras var fiksēt, izmantojot attēlveidošanas metodes, kas apstiprina tādu fluorescējošu marķieru kā GFP lietderību augstas izšķirtspējas skrīninga lietojumos.

HCT116-GFP kalpo kā spēcīgs instruments kolorektālā vēža bioloģijas izpētei, ļaujot veikt detalizētu audzēja šūnu uzvedības, mikroapstākļu mijiedarbības un terapeitiskās efektivitātes analīzi gan fundamentālās, gan translacionālās pētniecības kontekstā.

Organism

Cilvēks

Tissue

Resnās zarnas

Disease

Resnās zarnas karcinoma

Synonyms

HCT-116, HCT.116, HCT_116, HCT116, HCT116wt, HCT-116/P, HCT-116/vecāku, CoCL2

Raksturojums

Age

48 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Kaukāzietis

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

HCT116-GFP šūnas | 305649

Citation	HCT116-GFP (Cytion kataloga numurs 305649)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0291
GMO Status	GMO-S1: Šī HCT116 kolorektālās karcinomas šūnu līnija satur GFP konstruktus, kas ļauj fluorescences ceļā novērot audzēja šūnu uzvedību. Šī klasifikācija ir spēkā tikai Vācijā un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Mutational profile	Mutācija: p.Lys437Argfs*5, homozigota; Mutācija: p.Ile2675Aspfs*6, heterozigota; Mutācija: p.Arg24Serfs*20, heterozigota; Mutācija: p.Glu33Argfs*20, heterozigota; Mutācija: p.Asp74fs*21, heterozigota; Mutācija: p.Ser45del, heterozigota; Mutācija: p.Met1470Cysfs*22, heterozigota; Mutācija: p.Asn1700Thrfs*9, heterozigota; Mutācija: p.Gly13Asp, heterozigota; Mutācija: p.His1047Arg, heterozigota; Mutācija: p.Leu450Ter, heterozigota; Mutācija: p.Lys128Serfs*35, homozigota
---------------------------	---

Darbs ar

Culture Medium	McCoy's 5a, w: 3,0 g/l glikoze, w: stabils glutamīns, w: 2,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820200a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	27 stundas; 17,1 stundas; 22 stundas; 25,02 stundas; 36 stundas; 18,14 ± 0,051 stundas; ~25–48 stundas; 17,4 stundas; ~21 stundas
Seeding density	2 līdz 4 x 10 ⁴ šūnas/cm ²
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

HCT116-GFP šūnas | 305649

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA