

HCT116-Luc-cellen | 305787

Algemene informatie

Description

HCT 116-Luc is een luciferase-expresserende afgeleide van de menselijke colorectale carcinoomcellijn HCT 116. De lijn is gegenereerd door transductie met een construct dat codeert voor vuurvlieg-luciferase van *Photinus pyralis*, samen met een puromycine-resistentiecassette (*pac*), waardoor de reporter-expressie constitutief is in plaats van pathway-afhankelijk. Het bioluminescente signaal is daarom evenredig aan het aantal levensvatbare cellen, waardoor het model geschikt is voor het niet-invasief volgen van de tumorbelasting in vivo en voor snelle, op kweekplaten gebaseerde kwantificering van de levensvatbaarheid en proliferatie van cellen in vitro.

De oorspronkelijke HCT 116-lijn behoudt haar kenmerkende eigenschappen in deze afgeleide lijn, waaronder microsatellietinstabiliteit met een deficiënt DNA-mismatch-reparatiesysteem, wildtype TP53 en een bijna-diploïde karyotype. De mutatieachtergrond omvat KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, een heterozygote CTNNB1 p.Ser45del die β -catenine stabiliseert en constitutieve Wnt-signalering stimuleert, en homozygote frameshift-mutaties in TGFBR2 en ACVR2A die kenmerkend zijn voor MSI-colorectale tumoren. Er zijn aanvullende varianten aanwezig in CDKN2A, EP300, BRCA2 en PPM1D. De stabiele integratie van de reporter maakt longitudinale beeldvorming mogelijk van orthotope en subcutane xenotransplantaten in hetzelfde dier, waardoor de omvang van de cohorten wordt verkleind en de noodzaak van terminale eindpunten op elk tijdstip wordt weggenomen. Puromycineselectie wordt gebruikt om het transgen tijdens routinematige expansie in stand te houden.

Deze lijn wordt op grote schaal toegepast in de preklinische oncologie, in werkzaamheidsstudies van cytotoxische en gerichte middelen, in metastase- en tumorgemikte modellen, en bij high-throughput cytotoxiciteitsscreening, waarbij een luminescente uitlezing een breder dynamisch bereik biedt dan colorimetrische assays. Omdat de expressie van luciferase niet onder induceerbare controle staat, geeft het signaal het aantal cellen en de metabolische toestand weer in plaats van de activiteit van een specifiek signaalpad; daarom kunnen verbindingen die de ATP-niveaus of het cellulaire metabolisme beïnvloeden de luminescentie beïnvloeden, onafhankelijk van celdoding. Orthogonale levensvatbaarheidstesten worden aanbevolen ter bevestiging, en bij de interpretatie van reacties op DNA-beschadigende middelen en immunomodulerende behandelingen moet rekening worden gehouden met de achtergrond van HCT 116, die een tekort aan mismatch-reparatie vertoont.

Organism

Mens

Tissue

Kolon

Disease

Coloncarcinoom

Kenmerken

Age

48 jaar

Gender

Mannelijk

Ethnicity

Kaukasisch

HCT116-Luc-cellen | 305787

Morphology Epitheelachtig**Growth properties** Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation HCT116-Luc (Cytion-catalogusnummer 305787)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_C8WT**GMO Status** GMO-S1: Deze cellijn bevat een stabiel geïntegreerde vuurvlieg-luciferase-reportercassette (Luc2, codon-geoptimaliseerd) die is ingebracht via replicatie-incompetente lentivirale transductie. De resulterende polyklonale celpopulatie werd in stand gehouden onder puromycineselectie (1–5 µg/mL). S1-beheersingsniveau is vereist. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Antigen expression Luc2 (vuurvlieg, codon-geoptimaliseerd)**Mutational profile** Mutatie: p.Lys437Argfs*5, homozygoot; Mutatie: p.Ile2675Aspfs*6, heterozygoot; Mutatie: p.Arg24Serfs*20, heterozygoot; Mutatie: p.Ser45del, heterozygoot; Mutatie: p.Met1470Cysfs*22, heterozygoot; Mutatie: p.Asn1700Thrfs*9, heterozygoot; Mutatie: p.Gly13Asp, heterozygoot; Mutatie: p.His1047Arg, heterozygoot; Mutatie: p.Leu450Ter, heterozygoot; Mutatie: p.Lys128Serfs*35, homozygoot

Omgaan met

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glucose, w: stabiel Glutamine, w: 2,0 mM Natriumpyruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820200a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Seeding density** 1-3*10⁴/cm²

HCT116-Luc-cellen | 305787

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150°C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37°C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78°C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HCT116-Luc-cellen | 305787

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.