

HCT116-Luc-celler | 305787

Generell informasjon

Description

HCT 116-Luc er et luciferase-uttrykkende derivat av den humane kolorektale karsinomcellelinjen HCT 116. Linjen ble generert ved transduksjon med et konstrukt som koder for ildflue-luciferase fra *Photinus pyralis* sammen med en puromycinresistenskasset (pac), slik at reporteruttrykket er konstitutivt snarere enn signalveiavhengig. Det bioluminescerende signalet er derfor proporsjonalt med antall levedyktige celler, noe som gjør modellen egnet for ikke-invasiv sporing av tumorbyrden in vivo og for rask, platebasert kvantifisering av cellelevedyktighet og -proliferasjon in vitro.

Den opprinnelige HCT 116-linjen beholder sine karakteristiske trekk i dette derivatet, inkludert mikrosatellittinstabilitet med mangelfull DNA-mismatch-reparasjon, villtype TP53 og en nesten diploid karyotype. Dens mutasjonsbakgrunn omfatter KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, en heterozygot CTNNB1 p.Ser45del som stabiliserer β -katenin og driver konstitutiv Wnt-signaler, samt homozygote rammeskiftmutasjoner i TGFBR2 og ACVR2A, som er typiske for MSI-kolorektale svulster. Ytterligere varianter finnes i CDKN2A, EP300, BRCA2 og PPM1D. Stabil integrering av reportergenet muliggjør longitudinell avbildning av ortotopiske og subkutane xenotransplantater i samme dyr, noe som reduserer kohortstørrelsene og eliminerer behovet for terminale endepunkter ved hvert tidspunkt. Puromycin-seleksjon brukes til å opprettholde transgenet under rutinemessig ekspansjon.

Denne linjen brukes mye i preklinisk onkologi, i effektstudier av cytotoksiske og målrettede midler, i modeller for metastase og tumørhoming, samt i cytotoxissitetsscreening med høy gjennomstrømning der en luminescerende avlesning gir et bredere dynamisk område enn kolorimetriske analyser. Siden luciferase-ekspresjonen ikke er under inducerbar kontroll, indikerer signalet antall celler og metabolsk tilstand snarere enn aktiviteten i en spesifikk signalvei, slik at forbindelser som endrer ATP-nivåer eller cellulær metabolisme kan påvirke luminescensen uavhengig av celledrap. Ortogonale levedyktighetsanalyser anbefales for bekreftelse, og HCT 116s bakgrunn med mangelfull mismatch-reparasjon bør tas i betraktning ved tolkning av responser på DNA-skadende midler og immunmodulerende behandlinger.

Organism Menneskelig

Tissue Colon

Disease Tykktarmskarsinom

Kjennetegn

Age 48 år

Gender Mann

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Epitel-lignende

HCT116-Luc-celler | 305787

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

HCT116-Luc (Cytion-katalognummer 305787)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_C8WT

GMO Status

GMO-S1: Denne cellelinjen inneholder en stabilt integrert reporter-kassett med ildflue-luciferase (Luc2, kodonoptimalisert) som er innført via replikasjonsinkompetent lentiviral transduksjon. Den resulterende polyklonale cellepopulasjonen ble opprettholdt under puromycin-seleksjon (1–5 µg/mL). S1-sikkerhetsnivå er påkrevd. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Antigen expression

Luc2 (ildflue, kodonoptimalisert)

Mutational profile

Mutasjon: p.Lys437Argfs*5, homozygot; Mutasjon: p.Ile2675Aspfs*6, heterozygot; Mutasjon: p.Arg24Serfs*20, heterozygot; Mutasjon: p.Ser45del, heterozygot; Mutasjon: p.Met1470Cysfs*22, heterozygot; Mutasjon: p.Asn1700Thrfs*9, heterozygot; Mutasjon: p.Gly13Asp, heterozygot; Mutasjon: p.His1047Arg, heterozygot; Mutasjon: p.Leu450Ter, heterozygot; Mutasjon: p.Lys128Serfs*35, homozygot

Håndtering

Culture Medium

McCoy's 5a, m: 3,0 g/L glukose, m: stabil glutamin, m: 2,0 mM natriumpyruvat, m: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820200a)

Supplements

Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Seeding density

 $1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$

HCT116-Luc-celler | 305787

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

HCT116-Luc-celler | 305787

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.