

Células HCT116-Luc | 305787

Informações gerais

Description

A HCT 116-Luc é um derivado da linha celular de carcinoma colorretal humano HCT 116 que expressa luciferase. A linha foi gerada por transdução com uma construção que codifica a luciferase do pirilampo *Photinus pyralis*, juntamente com uma casete de resistência à puromicina (*pac*), pelo que a expressão do repórter é constitutiva e não depende de vias metabólicas. O sinal bioluminescente é, portanto, proporcional ao número de células viáveis, o que torna o modelo adequado para o acompanhamento não invasivo da carga tumoral in vivo e para a quantificação rápida, em placas, da viabilidade e proliferação celular in vitro.

A linha parental HCT 116 mantém as suas características definidoras nesta derivada, incluindo instabilidade de microssatélites com reparação deficiente de desajustes de ADN, TP53 de tipo selvagem e um cariótipo quase diploide. O seu pano de fundo mutacional compreende KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, um CTNNB1 p.Ser45del heterozigótico que estabiliza a β -catenina e induz a sinalização Wnt constitutiva, e mutações homozigóticas com deslocamento do quadro de leitura em TGFBR2 e ACVR2A, típicas de tumores colorretais com MSI. Estão presentes variantes adicionais em CDKN2A, EP300, BRCA2 e PPM1D. A integração estável do repórter permite a imagiologia longitudinal de xenoinxertos ortotópicos e subcutâneos no mesmo animal, reduzindo a dimensão das coortes e eliminando a necessidade de parâmetros finais em cada ponto temporal. A seleção com puromicina é utilizada para manter o transgene durante a expansão de rotina.

Esta linha é amplamente aplicada na oncologia pré-clínica, em estudos de eficácia de agentes citotóxicos e direcionados, em modelos de metástase e de homing tumoral, e no rastreio de citotoxicidade de alto rendimento, onde uma leitura luminescente oferece uma gama dinâmica mais ampla do que os ensaios colorimétricos. Como a expressão da luciferase não está sob controlo induzível, o sinal reflete o número de células e o estado metabólico, em vez da atividade de uma via específica; por isso, os compostos que alteram os níveis de ATP ou o metabolismo celular podem afetar a luminescência independentemente da morte celular. Recomenda-se a realização de ensaios de viabilidade ortogonais para confirmação, e o contexto de deficiência na reparação de desajustes da linha celular HCT 116 deve ser tido em conta na interpretação das respostas a agentes que causam danos no ADN e a tratamentos imunomoduladores.

Organism

Humano

Tissue

Cólon

Disease

Carcinoma do cólon

Caraterísticas

Age

48 anos

Gender

Masculino

Ethnicity

Caucasiano

Morphology

De tipo epitelial

Células HCT116-Luc | 305787

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

Dados regulamentares

Citation	HCT116-Luc (número de catálogo da Cytion 305787)
-----------------	--

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

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

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

GMO Status	GMO-S1: Esta linha celular contém uma cassete repórter de luciferase de pirilampo (Luc2, com códons otimizados) integrada de forma estável, introduzida através de transdução lentiviral incompetente para replicação. A população celular policlonal resultante foi mantida sob seleção com puromicina (1–5 µg/mL). É necessário o nível de contenção S1. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.
-------------------	---

Dados biomoleculares

Antigen expression	Luc2 (firefly, com codões otimizados)
---------------------------	---------------------------------------

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

Manuseamento

Culture Medium	McCoy's 5a, com: 3,0 g/L de glucose, com: glutamina estável, com: 2,0 mM de piruvato de sódio, com: 2,2 g/L de NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820200a)
-----------------------	---

Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
--------------------	---------------------------------

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

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

Células HCT116-Luc | 305787

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células HCT116-Luc | 305787

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.