

Celule HCT116-Luc | 305787

Informații generale

Description

HCT 116-Luc este un derivat al liniei celulare HCT 116 de carcinom colorectal uman, care exprimă luciferaza. Linia a fost generată prin transducție cu un construct care codifică luciferaza de licurici din *Photinus pyralis* împreună cu o casetă de rezistență la puomicină (*pac*), astfel încât expresia reporterului este constitutivă, mai degrabă decât dependentă de calea metabolică. Semnalul bioluminescent este, prin urmare, proporțional cu numărul de celule viabile, ceea ce face ca modelul să fie adecvat pentru monitorizarea neinvazivă a încărcăturii tumorale in vivo și pentru cuantificarea rapidă, pe placă, a viabilității și proliferării celulare in vitro.

Linia parentală HCT 116 își păstrează caracteristicile definitorii în acest derivat, inclusiv instabilitatea microsatelitară cu reparație deficitară a nepotrivirilor de ADN, TP53 de tip sălbatic și un cariotip aproape diploid. Fondul său mutațional cuprinde KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, o mutație heterozigotă CTNNB1 p.Ser45del care stabilizează β -catenina și stimulează semnalizarea Wnt constitutivă, precum și mutații homozigote cu deplasare a cadrului de citire în TGFBR2 și ACVR2A, tipice pentru tumorile colorectale cu MSI. Sunt prezente variante suplimentare în CDKN2A, EP300, BRCA2 și PPM1D. Integrarea stabilă a reporterului permite imagistica longitudinală a xenogrefelor ortotopice și subcutanate la același animal, reducând dimensiunile cohortei și eliminând necesitatea unor criterii de evaluare finale la fiecare moment de timp. Se utilizează selecția cu puomicină pentru a menține transgenul în timpul expansiunii de rutină.

Această linie este utilizată pe scară largă în oncologia preclinică, în studiile de eficacitate ale agenților citotoxici și țintiți, în modelele de metastazare și de homing tumoral, precum și în screeningul de citotoxicitate de mare capacitate, unde citirea luminescentă oferă o gamă dinamică mai largă decât testele colorimetrice. Deoarece expresia luciferazei nu este sub control inducibil, semnalul indică numărul de celule și starea metabolică, mai degrabă decât activitatea unei căi specifice; astfel, compușii care modifică nivelurile de ATP sau metabolismul celular pot afecta luminescența independent de distrugerea celulelor. Pentru confirmare se recomandă testele ortogonale de viabilitate, iar fondul de deficit de reparație a nepotrivirilor din linia celulară HCT 116 trebuie luat în considerare la interpretarea răspunsurilor la agenții care afectează ADN-ul și la tratamentele imunomodulatoare.

Organism

Om

Tissue

Colon

Disease

Carcinom de colon

Caracteristici

Age

48 de ani

Gender

Masculin

Ethnicity

Caucasian

Morphology

De tip epitelial

Celule HCT116-Luc | 305787

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Citation HCT116-Luc (număr de catalog Cytion 305787)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_C8WT

GMO Status GMO-S1: Această linie celulară conține o casetă reporter de luciferază de licurici (Luc2, optimizată la nivel de codon) integrată stabil, introdusă prin transducție lentivirală incompetentă din punct de vedere al replicării. Populația celulară policlonală rezultată a fost menținută sub selecție cu puromicină (1–5 µg/mL). Este necesară izolarea de tip S1. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

Date biomoleculare

Antigen expression Luc2 (licurici, optimizat la nivel de codon)

Mutational profile Mutație: p.Lys437Argfs*5, homozigotă; Mutație: p.Ile2675Aspfs*6, heterozigotă; Mutație: p.Arg24Serfs*20, heterozigotă; Mutație: p.Ser45del, heterozigotă; Mutație: p.Met1470Cysfs*22, heterozigotă; Mutație: p.Asn1700Thrfs*9, heterozigotă; Mutație: p.Gly13Asp, heterozigotă; Mutație: p.His1047Arg, heterozigotă; Mutație: p.Leu450Ter, heterozigotă; Mutație: p.Lys128Serfs*35, homozigotă

Manipulare

Culture Medium McCoys 5a, cu: 3,0 g/L glucoză, cu: glutamină stabilă, cu: 2,0 mM piruvat de sodiu, cu: 2,2 g/L NaHCO₃ (numărul articolului Cytion 820200a)

Supplements Suplimentați mediul cu 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Seeding density 1-3*10⁴/cm²

Celule HCT116-Luc | 305787

Freeze medium

Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosferă umidificată.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule HCT116-Luc | 305787

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.