

HCT116-Luc-celler | 305787

Allmän information

Description

HCT 116-Luc är en luciferasuttryckande variant av den humana kolorektala karcinomcellinjen HCT 116. Cellinjen genererades genom transduktion med en konstrukt som kodar för eldfluga-luciferas från *Photinus pyralis* tillsammans med en puromycinresistenskasset (pac), vilket innebär att reporteruttrycket är konstitutivt snarare än signalvägsberoende. Den bioluminescerande signalen är därför proportionell mot antalet livsdugliga celler, vilket gör modellen lämplig för icke-invasiv spårning av tumörbördan in vivo och för snabb, plattbaserad kvantifiering av cellernas livsduglighet och proliferation in vitro.

Den ursprungliga HCT 116-linjen behåller sina utmärkande egenskaper i denna derivatlinje, inklusive mikrosatellitinstabilitet med bristfällig DNA-mismatch-reparation, vildtyp TP53 och en nästan diploid karyotyp. Dess mutationsbakgrund omfattar KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, en heterozygot CTNNB1 p.Ser45del som stabiliserar β -katenin och driver konstitutiv Wnt-signaler, samt homozygota frameshift-mutationer i TGFBR2 och ACVR2A som är typiska för MSI-kolorektala tumörer. Ytterligare varianter förekommer i CDKN2A, EP300, BRCA2 och PPM1D. Stabil integration av reportergen möjliggör longitudinell avbildning av ortotopiska och subkutana xenotransplantat hos samma djur, vilket minskar kohortstorlekarna och eliminerar behovet av terminala slutpunkter vid varje tidpunkt. Puromycin-selektion används för att bibehålla transgenen under rutinmässig expansion.

Denna cellinje används i stor utsträckning inom preklinisk onkologi, i effektstudier av cytotoxiska och målinriktade läkemedel, i modeller för metastasering och tumörhoming samt vid cytotoxicitetsscreening med hög genomströmning där en luminescerande avläsning erbjuder ett bredare dynamiskt omfång än kolorimetriska analyser. Eftersom luciferasuttrycket inte styrs inducerbart, återspeglar signalen cellantalet och det metaboliska tillståndet snarare än aktiviteten i en specifik signalväg, vilket innebär att föreningar som förändrar ATP-nivåerna eller den cellulära metabolismen kan påverka luminescensen oberoende av celldöd. Orthogonala livskraftsanalyser rekommenderas för bekräftelse, och den bakgrund av bristande mismatch-reparation som kännetecknar HCT 116 bör beaktas vid tolkningen av responser på DNA-skadande ämnen och immunmodulerande behandlingar.

Organism

Människan

Tissue

Kolon

Disease

Tjocktarmscancer

Egenskaper

Age

48 år

Gender

Man

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Epitelliknande

HCT116-Luc-celler | 305787

Growth properties	Följsam
--------------------------	---------

Lagstadgade uppgifter

Citation	HCT116-Luc (Cytion-katalognummer 305787)
-----------------	--

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

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

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

GMO Status	GMO-S1: Denna cellinje innehåller en stabilt integrerad reporter-kasset med eldfluga-luciferas (Luc2, kodonoptimerad) som införts via replikationsinkompetent lentiviral transduktion. Den resulterande polyklonala cellpopulationen odlades under puromycinselektion (1–5 µg/mL). S1-säkerhetsklass krävs. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt i andra länder.
-------------------	--

Biomolekylära data

Antigen expression	Luc2 (eldfluga, kodonoptimerad)
---------------------------	---------------------------------

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

Hantering

Culture Medium	McCoy's 5a, w: 3,0 g/L Glukos, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820200a)
-----------------------	---

Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
--------------------	--------------------------------

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

Seeding density	1–3 × 10 ⁴ /cm ²
------------------------	--

HCT116-Luc-celler | 305787

Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryounducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödesbänk och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturbelägg; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

HCT116-Luc-celler | 305787

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.