

Bunky HCT116-Luc | 305787**Všeobecné informácie****Description**

HCT 116-Luc je derivát ľudskej bunkovej línie kolorektálneho karcinómu HCT 116, ktorý exprimuje luciferázu. Táto línia bola vytvorená transdukciou pomocou konštruktu kódujúceho luciferázu svätojánskej mušky *Photinus pyralis* spolu s kazetou rezistencie na puromycín (*pac*), takže expresia reportéra je konštitutívna a nie závislá na signálnej dráhe. Bioluminiscenčný signál je preto úmerný počtu životaschopných buniek, vďaka čomu je tento model vhodný na neinvazívne sledovanie nádorovej záťaže in vivo a na rýchlu kvantifikáciu životaschopnosti a proliferácie buniek in vitro pomocou kultivačných platní.

Rodičovská línia HCT 116 si v tomto deriváte zachováva svoje charakteristické črty, vrátane mikrosatelitnej nestability s deficitom opravy nesúladu DNA, divokého typu TP53 a takmer diploidného karyotypu. Jej mutačné pozadie zahŕňa KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, heterozygotnú mutáciu CTNNB1 p.Ser45del, ktorá stabilizuje β -katenín a riadi konštitutívnu Wnt signalizáciu, a homozygotné frameshiftové mutácie v génoch TGFBR2 a ACVR2A, typické pre kolorektálne nádory s MSI. Ďalšie varianty sa vyskytujú v génoch CDKN2A, EP300, BRCA2 a PPM1D. Stabilná integrácia reportéra umožňuje longitudinálne zobrazovanie ortotopických a subkutánných xenotransplantátov u toho istého zvieraťa, čím sa znižuje veľkosť kohorty a odstraňuje potreba terminálnych koncových bodov v každom časovom bode. Na udržanie transgénu počas rutinného rozmnožovania sa používa selekcia puromycínom.

Táto línia sa široko využíva v predklinickej onkológii, v štúdiách účinnosti cytotoxických a cielených liečiv, v modeloch metastázovania a homingu nádorov, ako aj pri vysokokapacitnom skríningu cytotoxicity, kde luminiscenčné meranie ponúka širší dynamický rozsah než kolorimetrické testy. Keďže expresia luciferázy nie je pod indukateľnou kontrolou, signál informuje skôr o počte buniek a metabolickom stave než o aktivite špecifickej dráhy, takže zlúčeniny, ktoré menia hladiny ATP alebo bunkový metabolizmus, môžu ovplyvniť luminiscenciu nezávisle od usmrcovania buniek. Na potvrdenie sa odporúčajú ortogonálne testy životaschopnosti a pri interpretácii reakcií na látky poškodzujúce DNA a imunomodulačné liečby by sa malo zohľadniť pozadie defektu opravy nesúladu v bunke HCT 116.

Organism

Ľudské

Tissue

Colon

Disease

Karcinóm hrubého čreva

Charakteristika**Age**

48 rokov

Gender

Muži

Ethnicity

Kaukazský

Morphology

Epitelu podobné

Bunky HCT116-Luc | 305787**Growth properties**

Adherent

Regulačné údaje**Citation**

HCT116-Luc (katalógové číslo Cytion 305787)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_C8WT

GMO Status

GMO-S1: Táto bunková línia obsahuje stabilne integrovanú reportérovú kazetu s luciferázou svätého Jánskej mušky (Luc2, s optimalizovanými kodónmi), ktorá bola zavedená prostredníctvom lentivírusovej transdukcie bez schopnosti replikácie. Výsledná polyklonálna bunková populácia bola udržiavaná pod selekciou puromycínom (1–5 µg/ml). Je vyžadované bezpečnostné opatrenie triedy S1. Táto klasifikácia platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje**Antigen expression**

Luc2 (svetluška, s optimalizovanými kodónmi)

Mutational profile

Mutácia: p.Lys437Argfs*5, homozygotná; Mutácia: p.Ile2675Aspfs*6, heterozygotná; Mutácia: p.Arg24Serfs*20, heterozygotná; Mutácia: p.Ser45del, heterozygotná; Mutácia: p.Met1470Cysfs*22, heterozygotná; Mutácia: p.Asn1700Thrfs*9, heterozygotná; Mutácia: p.Gly13Asp, heterozygotná; Mutácia: p.His1047Arg, heterozygotná; Mutácia: p.Leu450Ter, heterozygotná; Mutácia: p.Lys128Serfs*35, homozygotná

Spracovanie**Culture Medium**McCoy's 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilný glutamín, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (číslo článku Cytion 820200a)**Supplements**

Doplňte médium o 10 % FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Seeding density1–3 × 10⁴/cm²

Bunky HCT116-Luc | 305787

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky HCT116-Luc | 305787

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.