

Celice HCT116-Luc | 305787

Splošne informacije

Description

HCT 116-Luc je derivat človeške celične linije kolorektalnega karcinoma HCT 116, ki izraža luciferazo. Linija je bila ustvarjena s transdukcijo s konstruktom, ki kodira luciferazo svetlečega hrošča *Photinus pyralis* skupaj s kaseto za odpornost proti puromicinu (*pac*), zato je ekspresija reporterja konstitutivna in ne odvisna od signalne poti. Bioluminescenčni signal je zato sorazmeren s številom živih celic, zaradi česar je model primeren za neinvazivno spremljanje obremenitve z rakom in vivo ter za hitro kvantifikacijo celične vitalnosti in proliferacije in vitro na ploščah.

Izvirna linija HCT 116 v tem derivatu ohranja svoje značilne lastnosti, vključno z nestabilnostjo mikrosatelitov s pomanjkljivim popravljanjem neskladij v DNK, divjim tipom TP53 in skoraj diploidnim kariotipom. Njeno mutacijsko ozadje obsega KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, heterozigotno delecijo CTNNB1 p.Ser45del, ki stabilizira β -katenin in spodbuja konstitutivno Wnt-signalizacijo, ter homozigotne mutacije s premikom branja v genih TGFBR2 in ACVR2A, značilne za MSI-kolorektalne tumorje. Dodatne variante so prisotne v genih CDKN2A, EP300, BRCA2 in PPM1D. Stabilna integracija reporterja omogoča longitudinalno slikanje ortotopnih in podkožnih ksenotransplantatov pri isti živali, kar zmanjša velikost kohort in odpravlja potrebo po končnih merilih v vsakem časovnem trenutku. Za ohranjanje transgena med rutinsko ekspanzijo se uporablja selekcija s puromicinom.

Ta linija se široko uporablja v predklinični onkologiji, v študijah učinkovitosti citotoksičnih in ciljno usmerjenih zdravil, v modelih metastaziranja in usmerjanja v tumor ter pri presejanju citotoksičnosti z visoko zmogljivostjo, kjer luminescenčni odčitek ponuja širši dinamični razpon kot kolorimetrični testi. Ker izražanje luciferaze ni pod inducibilnim nadzorom, signal prikazuje število celic in presnovno stanje, ne pa aktivnosti določene poti, zato lahko spojine, ki spreminjajo ravni ATP ali celični metabolizem, vplivajo na luminescenco neodvisno od uničevanja celic. Za potrditev se priporočajo ortogonalni testi vitalnosti, pri razlagi odzivov na sredstva, ki poškodujejo DNK, in imunomodulatorna zdravljenja pa je treba upoštevati pomanjkanje popravljanja neskladij v ozadju celic HCT 116.

Organism

Človek

Tissue

Debelo črevo

Disease

Karcinom debelega črevesa

Značilnosti

Age

48 let

Gender

Moški

Ethnicity

Kavkaški

Morphology

Epitelijam podobni

Celice HCT116-Luc | 305787

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation

HCT116-Luc (katalogska številka Cytion 305787)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_C8WT

GMO Status

GMO-S1: Ta celična linija vsebuje stabilno vgrajeno poročevalsko kaseto luciferaze svetlečega črviča (Luc2, kodonsko optimizirano), ki je bila vnesena z replikacijsko nesposobno lentiviralno transdukcijo. Nastala poliklonalna celična populacija je bila vzdrževana pod selekcijo s puromicinom (1–5 µg/mL). Zahteva se varnostni razred S1. Ta klasifikacija velja le v Nemčiji in se drugod lahko razlikuje.

Biomolekularni podatki

Antigen expression

Luc2 (svetlobna mušica, kodonsko optimizirana)

Mutational profile

Mutacija: p.Lys437Argfs*5, homozigotna; Mutacija: p.Ile2675Aspfs*6, heterozigotna; Mutacija: p.Arg24Serfs*20, heterozigotna; Mutacija: p.Ser45del, heterozigotna; Mutacija: p.Met1470Cysfs*22, heterozigotna; Mutacija: p.Asn1700Thrfs*9, heterozigotna; Mutacija: p.Gly13Asp, heterozigotna; Mutacija: p.His1047Arg, heterozigotna; Mutacija: p.Leu450Ter, heterozigotna; Mutacija: p.Lys128Serfs*35, homozigotna

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium

McCoys 5a, w: 3,0 g/L glukoze, w: stabilen glutamin, w: 2,0 mM natrijevega piruvata, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820200a)

Supplements

Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Seeding density

1–3 × 10⁴/cm²

Celice HCT116-Luc | 305787

Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogska številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohrani optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice HCT116-Luc | 305787

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.