

## HCT116-Luc Hücreleri | 305787

## Genel bilgi

## Description

HCT 116-Luc, insan kolorektal karsinom hücre hattı HCT 116'nın lusiferaz eksprese eden bir türevidir. Bu hat, *Photinus pyralis*'ten elde edilen ateşböceği lusiferazını kodlayan bir yapı ile puromisin direnç kaseti (*pac*) birleştirilerek transdüksiyon yoluyla oluşturulmuştur; dolayısıyla raportör ekspresyonu, yolak bağımlı değil, konstitüttir. Bu nedenle biyoluminesan sinyal, canlı hücre sayısı ile orantılıdır; bu da modeli, in vivo olarak tümör yükünün non-invaziv izlenmesi ve in vitro olarak hücre canlılığı ile proliferasyonunun hızlı, plaka tabanlı kantifikasyonu için uygun hale getirir.

Ana HCT 116 hattı, DNA uyumsuzluk onarımında eksiklik ile birlikte mikrosatellit instabilitesi, vahşi tip TP53 ve neredeyse diploid bir karyotip dahil olmak üzere, bu türevde de belirleyici özelliklerini korumaktadır. Mutasyonel arka planı, KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg,  $\beta$ -katenini stabilize eden ve konstitütf Wnt sinyalini tetikleyen heterozigot CTNNB1 p.Ser45del ve MSI kolorektal tümörlere özgü TGFBR2 ve ACVR2A'daki homozigot çerçeve kayması mutasyonlarından oluşur. CDKN2A, EP300, BRCA2 ve PPM1D genlerinde de ek varyantlar mevcuttur. Raporlayıcının stabil entegrasyonu, aynı hayvanda ortotopik ve subkutan ksenograftların uzun süreli görüntülenmesine olanak tanır; bu da kohort boyutlarını azaltır ve her zaman noktasında terminal sonlanım noktalarına olan ihtiyacı ortadan kaldırır. Rutin çoğaltma sırasında transgeni korumak için puromisin seleksiyonu kullanılır.

Bu hücre hattı, prelinik onkolojide, sitotoksik ve hedefe yönelik ajanların etkinlik çalışmalarında, metastaz ve tümör hedefleme modellerinde ve lüminesan okumanın kolorimetrik testlere göre daha geniş bir dinamik aralık sunduğu yüksek verimli sitotoksisite taramalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Lüseraz ekspresyonu indüklenebilir kontrol altında olmadığından, sinyal belirli bir yolak aktivitesinden ziyade hücre sayısını ve metabolik durumu yansıtır; bu nedenle, ATP düzeylerini veya hücre metabolizmayı değiştiren bileşikler, hücre ölümünden bağımsız olarak lüminesansı etkileyebilir. Doğrulama amacıyla ortogonal canlılık testleri önerilir; ayrıca, DNA'ya zarar veren ajanlara ve immünomodülatör tedavilere verilen yanıtlar yorumlanırken, HCT 116 hücrelerinin mismatch onarım eksikliği olan arka planı dikkate alınmalıdır.

## Organism

İnsan

## Tissue

Kolon

## Disease

Kolon karsinomu

## Özellikler

## Age

48 yıl

## Gender

Erkek

## Ethnicity

Kafkas

## Morphology

Epitel benzeri

## HCT116-Luc Hücreleri | 305787

## Growth properties

Yapışık

## Düzenleyici Veriler

## Citation

HCT116-Luc (Cytion katalog numarası 305787)

## Biosafety level

1

## NCBI\_TaxID

9606

## CellosaurusAccession

CVCL\_C8WT

## GMO Status

GMO-S1: Bu hücre hattı, replikasyon yeteneği olmayan lentiviral transdüksiyon yoluyla eklenen, kararlı bir şekilde entegre edilmiş ateşböceği lusiferaz raportör kasetini (Luc2, kodon optimizasyonlu) içerir. Ortaya çıkan poliklonal hücre popülasyonu, puromisin seleksiyonu (1–5 µg/mL) altında muhafaza edilmiştir. S1 güvenlik sınıfı gereklidir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.

## Biyomoleküler Veriler

## Antigen expression

Luc2 (ateşböceği, kodon optimizasyonlu)

## Mutational profile

Mutasyon: p.Lys437Argfs\*5, Homozigot; Mutasyon: p.Ile2675Aspfs\*6, Heterozigot; Mutasyon: p.Arg24Serfs\*20, Heterozigot; Mutasyon: p.Ser45del, Heterozigot; Mutasyon: p.Met1470Cysfs\*22, Heterozigot; Mutasyon: p.Asn1700Thrfs\*9, Heterozigot; Mutasyon: p.Gly13Asp, Heterozigot; Mutasyon: p.His1047Arg, Heterozigot; Mutasyon: p.Leu450Ter, Heterozigot; Mutasyon: p.Lys128Serfs\*35, Homozigot

## Elleçleme

## Culture Medium

McCoy's 5a, w: 3.0 g/L Glukoz, w: stabil Glutamin, w: 2.0 mM Sodyum piruvat, w: 2.2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion makale numarası 820200a)

## Supplements

Ortamı %10 FBS ile takviye edin

## Dissociation Reagent

Accutase

## Seeding density

1–3 × 10<sup>4</sup>/cm<sup>2</sup>

## HCT116-Luc Hücreleri | 305787

### Freeze medium

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

### Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

### Incubation Atmosphere

37°C, %5<sub>CO2</sub>, nemlendirilmiş atmosfer.

### Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

### Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

## HCT116-Luc Hücreleri | 305787

### Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz

#### Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.