

Клітини HCT116-Luc | 305787

Загальна інформація

Description

HCT 116-Luc — це похідна клітинної лінії HCT 116, що експресує люциферазу, отримана з клітин колоректального раку людини. Лінія була створена шляхом трансдукції за допомогою конструкта, що кодує люциферазу світлячка *Photinus pyralis* разом із касетою резистентності до пуроміцину (pac), тому експресія репортера є конститутивною, а не залежною від сигнального шляху. Отже, біolumінесцентний сигнал пропорційний кількості життєздатних клітин, що робить цю модель придатною для неінвазивного моніторингу пухлинного навантаження *in vivo* та для швидкої кількісної оцінки життєздатності й проліферації клітин *in vitro* за допомогою мікродошок.

Базова лінія HCT 116 зберігає свої характерні риси в цьому похідному варіанті, зокрема нестабільність мікросателітів із дефіцитом репарації місмачів ДНК, TP53 дикого типу та майже диплоїдний каріотип. Її мутаційний фон включає KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, гетерозиготну мутацію CTNNB1 p.Ser45del, яка стабілізує β-катенін та стимулює конститутивну Wnt-сигналізацію, а також гомозиготні мутації з зсувом рамки зчитування в генах TGFBR2 та ACVR2A, характерні для колоректальних пухлин з MSI. Додаткові варіанти присутні у генах CDKN2A, EP300, BRCA2 та PPM1D. Стабільна інтеграція репортера дозволяє проводити лонгітудинальну візуалізацію ортотопічних та підшкірних ксенотрансплантатів у одній і тій самій тварині, що зменшує розміри когорт та усуває необхідність у кінцевих кінцевих точках на кожному часовому етапі. Для збереження трансгену під час рутинного розмноження використовується селекція на пуроміцин.

Цю лінію широко застосовують у доклінічній онкології, у дослідженнях ефективності цитотоксичних та цільових препаратів, у моделях метастазування та націлювання на пухлину, а також у високопродуктивному скринінгу цитотоксичності, де люмінесцентні показники забезпечують ширший динамічний діапазон, ніж колориметричні аналізи. Оскільки експресія люциферази не перебуває під індукованим контролем, сигнал відображає кількість клітин та метаболічний стан, а не активність конкретного шляху, тому сполуки, що змінюють рівні АТФ або клітинний метаболізм, можуть впливати на люмінесценцію незалежно від загибелі клітин. Для підтвердження результатів рекомендується проводити ортогональні тести на життєздатність, а при інтерпретації реакцій на агенти, що пошкоджують ДНК, та імуномодуючі методи лікування слід враховувати дефіцит механізмів репарації місмачів у клітинах лінії HCT 116.

Organism	Людина
Tissue	Двоєсточие
Disease	Карцинома товстої кишки

Характеристики

Age	48 років
Gender	Чоловік
Ethnicity	Кавказець

Клітини HCT116-Luc | 305787

Morphology Епітеліальноподібні**Growth properties** Адепт

Нормативні дані

Citation HCT116-Luc (номер у каталозі Cytion — 305787)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_C8WT

GMO Status GMO-S1: Ця клітинна лінія містить стабільно інтегровану репортерну касету люцифери світлячка (Luc2, з оптимізацією кодонів), введена шляхом реплікаційно-некомпетентної лентівірусної трансдукції. Отриману поліклональну клітинну популяцію підтримували в умовах селекції пуроміцином (1–5 мкг/мл). Необхідний рівень біобезпеки S1. Ця класифікація діє лише на території Німеччини та може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Antigen expression Luc2 (світлячок, з оптимізованими кодонами)

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

Обробка

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 г/л Глюкоза, w: стабільна Глютамін, w: 2,0 мМ Піруват натрію, w: 2,2 г/л NaHCO₃ (Cytion article number 820200a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS**Dissociation Reagent** Аккутаза

Клітини HCT116-Luc | 305787

Seeding density 1–3 × 10⁴/cm²

Freeze medium Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, волога атмосфера.

Клітини HCT116-Luc | 305787

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.