

Células HCT116-Luc | 305787

Información general

Description

HCT 116-Luc es un derivado de la línea celular de carcinoma colorrectal humano HCT 116 que expresa luciferasa. La línea se generó mediante transducción con un constructo que codifica la luciferasa de la luciérnaga *Photinus pyralis* junto con un casete de resistencia a la puromicina (*pac*), por lo que la expresión del reportero es constitutiva y no depende de ninguna vía metabólica. Por lo tanto, la señal bioluminiscente es proporcional al número de células viables, lo que hace que el modelo sea adecuado para el seguimiento no invasivo de la carga tumoral in vivo y para la cuantificación rápida, en placa, de la viabilidad y la proliferación celular in vitro.

La línea parental HCT 116 conserva sus características definitorias en este derivado, incluyendo inestabilidad de microsatélites con reparación deficiente de desajustes de ADN, TP53 de tipo salvaje y un cariotipo casi diploide. Su fondo mutacional comprende KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, una delección heterocigótica en CTNNB1 p.Ser45del que estabiliza la β -catenina e impulsa la señalización Wnt constitutiva, y mutaciones homocigóticas con cambio de marco en TGFBR2 y ACVR2A, típicas de los tumores colorrectales con MSI. Se observan variantes adicionales en CDKN2A, EP300, BRCA2 y PPM1D. La integración estable del reportero permite la obtención de imágenes longitudinales de xenoinjertos ortotópicos y subcutáneos en el mismo animal, lo que reduce el tamaño de las cohortes y elimina la necesidad de criterios de evaluación finales en cada punto temporal. Se utiliza la selección con puromicina para mantener el transgén durante la expansión rutinaria.

Esta línea se aplica ampliamente en oncología preclínica, en estudios de eficacia de agentes citotóxicos y dirigidos, en modelos de metástasis y de migración tumoral, y en cribado de citotoxicidad de alto rendimiento, donde una lectura luminiscente ofrece un rango dinámico más amplio que los ensayos colorimétricos. Dado que la expresión de la luciferasa no está bajo control inducible, la señal refleja el número de células y el estado metabólico más que la actividad de una vía específica; por lo tanto, los compuestos que alteran los niveles de ATP o el metabolismo celular pueden afectar la luminiscencia independientemente de la muerte celular. Se recomiendan ensayos ortogonales de viabilidad para la confirmación, y se debe considerar el fondo de deficiencia en la reparación de desajustes de HCT 116 al interpretar las respuestas a agentes que dañan el ADN y a tratamientos inmunomoduladores.

Organism	Humano
Tissue	Dos puntos
Disease	Carcinoma de colon

Características

Age	48 años
Gender	Hombre
Ethnicity	caucásico
Morphology	De tipo epitelial

Células HCT116-Luc | 305787

Growth properties	Adherente
--------------------------	-----------

Datos normativos

Citation	HCT116-Luc (número de catálogo de Cytion 305787)
-----------------	--

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

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

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

GMO Status	GMO-S1: Esta línea celular contiene un casete reportero de luciferasa de luciérnaga (Luc2, optimizado por codones) integrado de manera estable, introducido mediante transducción con lentivirus incompetente para la replicación. La población celular policlonal resultante se mantuvo bajo selección con puromicina (1–5 µg/mL). Se requiere contención de nivel S1. Esta clasificación se aplica únicamente en Alemania y puede variar en otros lugares.
-------------------	--

Datos biomoleculares

Antigen expression	Luc2 (luciérnaga, optimizado por codones)
---------------------------	---

Mutational profile	Mutación: p.Lys437Argfs*5, homocigótica; Mutación: p.Ile2675Aspfs*6, heterocigótica; Mutación: p.Arg24Serfs*20, heterocigótica; Mutación: p.Ser45del, heterocigótica; Mutación: p.Met1470Cysfs*22, heterocigótica; Mutación: p.Asn1700Thrfs*9, heterocigótica; Mutación: p.Gly13Asp, heterocigoto; Mutación: p.His1047Arg, heterocigoto; Mutación: p.Leu450Ter, heterocigoto; Mutación: p.Lys128Serfs*35, homocigoto
---------------------------	--

Manejo

Culture Medium	McCoy's 5a, p: 3,0 g/L de glucosa, p: glutamina estable, p: 2,0 mM de piruvato de sodio, p: 2,2 g/L de NaHCO ₃ (número de artículo de Cytion 820200a)
-----------------------	--

Supplements	Añade al medio un 10 % de FBS
--------------------	-------------------------------

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

Seeding density	1-3*10 ⁴ /cm ²
------------------------	--------------------------------------

Células HCT116-Luc | 305787

Freeze medium

Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37 °C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiere todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente -78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Células HCT116-Luc | 305787

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y -196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a -80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.