

Cellules HCT116-Luc | 305787

Renseignements généraux

Description

HCT 116-Luc est un dérivé de la lignée cellulaire HCT 116, issue d'un carcinome colorectal humain, qui exprime la luciférase. Cette lignée a été générée par transduction à l'aide d'un construct codant pour la luciférase de la luciole *Photinus pyralis*, associé à une cassette de résistance à la puromycine (*pac*); l'expression du rapporteur est donc constitutive plutôt que dépendante d'une voie métabolique. Le signal bioluminescent est donc proportionnel au nombre de cellules viables, ce qui rend ce modèle adapté au suivi non invasif de la charge tumorale in vivo ainsi qu'à la quantification rapide, sur plaque, de la viabilité et de la prolifération cellulaires in vitro.

La lignée parentale HCT 116 conserve ses caractéristiques distinctives dans cette lignée dérivée, notamment l'instabilité microsatellitaire associée à un déficit de réparation des mésappariements de l'ADN, un gène TP53 de type sauvage et un caryotype quasi-diploïde. Son profil mutationnel comprend KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, une mutation hétérozygote CTNNB1 p.Ser45del qui stabilise la β -caténine et active la signalisation Wnt constitutive, ainsi que des mutations homozygotes par décalage du cadre de lecture dans TGFBR2 et ACVR2A, typiques des tumeurs colorectales présentant une instabilité des microsatellites (MSI). D'autres variants sont présents dans les gènes CDKN2A, EP300, BRCA2 et PPM1D. L'intégration stable du gène rapporteur permet l'imagerie longitudinale de xénogreffes orthotopiques et sous-cutanées chez le même animal, ce qui réduit la taille des cohortes et élimine la nécessité de critères d'évaluation finaux à chaque point temporel. La sélection à la puromycine est utilisée pour maintenir le transgène au cours de l'expansion de routine.

Cette lignée est largement utilisée en oncologie préclinique, dans les études d'efficacité d'agents cytotoxiques et ciblés, dans les modèles de métastases et de homing tumoral, ainsi que dans le criblage de cytotoxicité à haut débit où la lecture luminescente offre une plage dynamique plus large que les essais colorimétriques. Comme l'expression de la luciférase n'est pas sous contrôle inductible, le signal reflète le nombre de cellules et l'état métabolique plutôt que l'activité d'une voie spécifique; ainsi, les composés qui modifient les niveaux d'ATP ou le métabolisme cellulaire peuvent affecter la luminescence indépendamment de la destruction cellulaire. Des tests de viabilité orthogonaux sont recommandés à des fins de confirmation, et il convient de tenir compte du déficit en réparation des mésappariements de la lignée HCT 116 lors de l'interprétation des réponses aux agents endommageant l'ADN et aux traitements immunomodulateurs.

Organism Humain

Tissue Deux-points

Disease Carcinome du côlon

Caractéristiques

Age 48 ans

Gender Homme

Ethnicity caucasien

Cellules HCT116-Luc | 305787

Morphology De type épithélial**Growth properties** Adeptes

Données réglementaires

Citation HCT116-Luc (numéro de catalogue Cytion 305787)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_C8WT

GMO Status GMO-S1 : Cette lignée cellulaire contient une cassette de rapporteur à base de luciférase de luciole (Luc2, optimisée au niveau des codons) intégrée de manière stable, introduite par transduction lentivirale à réplication incompétente. La population cellulaire polyclonale ainsi obtenue a été maintenue sous sélection à la puromycine (1 à 5 µg/mL). Un confinement de niveau S1 est requis. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut varier ailleurs.

Données biomoléculaires

Antigen expression Luc2 (firefly, optimisé au niveau des codons)

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

Manipulation

Culture Medium McCoys 5a, w : 3,0 g/L de glucose, w : stable; glutamine, w : 2,0 mM de pyruvate de sodium, w : 2,2 g/L de NaHCO₃ (référence Cytion 820200a)

Supplements Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture**Dissociation Reagent** Accutase

Cellules HCT116-Luc | 305787**Seeding density** 1-3 × 10⁴/cm²**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.**Thawing and Culturing Cells**

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Cellules HCT116-Luc | 305787

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78°C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196°C . L'entreposage à -80°C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.