

Células HCT116-Luc | 305787

Informações gerais

Description

A HCT 116-Luc é um derivado da linhagem celular de carcinoma colorretal humano HCT 116 que expressa luciferase. A linhagem foi gerada por transdução com uma construção que codifica a luciferase do vaga-lume *Photinus pyralis*, juntamente com uma cassete de resistência à puomicina (*pac*), de modo que a expressão do repórter é constitutiva, e não dependente de vias metabólicas. O sinal bioluminescente é, portanto, proporcional ao número de células viáveis, o que torna o modelo adequado para o monitoramento não invasivo da carga tumoral in vivo e para a quantificação rápida, em placas, da viabilidade e proliferação celular in vitro.

A linhagem parental HCT 116 mantém suas características definidoras neste derivado, incluindo instabilidade de microssatélites com reparo deficiente de incompatibilidade de DNA, TP53 do tipo selvagem e um cariótipo quase diploide. Seu background mutacional compreende KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, uma mutação heterozigótica CTNNB1 p.Ser45del que estabiliza a β -catenina e induz a sinalização Wnt constitutiva, e mutações homozigóticas com deslocamento de quadro de leitura em TGFBR2 e ACVR2A, típicas de tumores colorretais com MSI. Variantes adicionais estão presentes em CDKN2A, EP300, BRCA2 e PPM1D. A integração estável do repórter permite a imagem longitudinal de xenoinxertos ortotópicos e subcutâneos no mesmo animal, reduzindo o tamanho das coortes e eliminando a necessidade de desfechos finais em cada ponto temporal. A seleção com puomicina é utilizada para manter o transgene durante a expansão de rotina.

Essa linhagem é amplamente aplicada na oncologia pré-clínica, em estudos de eficácia de agentes citotóxicos e direcionados, em modelos de metástase e de homing tumoral, e em triagem de citotoxicidade de alto rendimento, onde a leitura luminescente oferece uma faixa dinâmica mais ampla do que os ensaios colorimétricos. Como a expressão da luciferase não está sob controle induzível, o sinal reflete o número de células e o estado metabólico, e não a atividade de uma via específica; portanto, compostos que alteram os níveis de ATP ou o metabolismo celular podem afetar a luminescência independentemente da morte celular. Recomenda-se a realização de ensaios ortogonais de viabilidade para confirmação, e o contexto de deficiência no reparo de incompatibilidade do HCT 116 deve ser considerado ao interpretar as respostas a agentes que causam danos ao DNA e a tratamentos imunomoduladores.

Organism

Humano

Tissue

Dois pontos

Disease

Carcinoma de cólon

Características

Age

48 anos

Gender

Masculino

Ethnicity

caucasiano

Morphology

De tipo epitelial

Células HCT116-Luc | 305787

Growth properties	Aderente
--------------------------	----------

Dados regulatórios

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

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

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

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

GMO Status	GMO-S1: Esta linhagem celular contém uma cassete repórter de luciferase de vaga-lume (Luc2, com códons otimizados) integrada de forma estável, introduzida por meio de transdução lentiviral incompetente para replicação. A população celular policlonal resultante foi mantida sob seleção com puromicina (1–5 µg/mL). É necessário o nível de contenção S1. Essa classificação se aplica apenas na Alemanha e pode diferir em outros países.
-------------------	---

Dados biomoleculares

Antigen expression	Luc2 (firefly, com otimização de códons)
---------------------------	--

Mutational profile	Mutação: p.Lys437Argfs*5, homozigótica; Mutação: p.Ile2675Aspfs*6, heterozigótica; Mutação: p.Arg24Serfs*20, heterozigótica; Mutação: p.Ser45del, heterozigótica; Mutação: p.Met1470Cysfs*22, heterozigótica; Mutação: p.Asn1700Thrfs*9, heterozigótica; Mutação: p.Gly13Asp, heterozigótica; Mutação: p.His1047Arg, heterozigótica; Mutação: p.Leu450Ter, heterozigótica; Mutação: p.Lys128Serfs*35, homozigótica
---------------------------	--

Manuseio

Culture Medium	McCoy's 5a, p: 3,0 g/L de glicose, p: glutamina estável, p: 2,0 mM de piruvato de sódio, p: 2,2 g/L de NaHCO ₃ (número de artigo da Cytion 820200a)
-----------------------	--

Supplements	Adicione 10% de FBS ao meio
--------------------	-----------------------------

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

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

Células HCT116-Luc | 305787

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Células HCT116-Luc | 305787

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.