

Tế bào HCT116-Luc | 305787

Thông tin chung

Description

HCT 116-Luc là một dòng tế bào biến đổi gen biểu hiện luciferase, được tạo ra từ dòng tế bào ung thư đại trực tràng ở người HCT 116. Dòng tế bào này được tạo ra bằng cách chuyển gen với một cấu trúc mã hóa luciferase đom đóm từ *Photinus pyralis* cùng với một cassette kháng puromycin (*pac*), do đó sự biểu hiện của báo cáo là cấu thành chứ không phụ thuộc vào con đường truyền tín hiệu. Do đó, tín hiệu phát quang sinh học tỷ lệ thuận với số lượng tế bào còn sống, điều này khiến mô hình này phù hợp để theo dõi khối lượng khối u trong cơ thể một cách không xâm lấn và để định lượng nhanh chóng, dựa trên đĩa nuôi cấy, khả năng sống sót và sự tăng sinh của tế bào trong ống nghiệm.

Dòng tế bào gốc HCT 116 vẫn giữ nguyên các đặc điểm đặc trưng trong dòng biến thể này, bao gồm sự không ổn định microsatellite kèm theo khiếm khuyết sửa chữa sai lệch DNA, gen TP53 kiểu hoang dã và bộ nhiễm sắc thể gần như lưỡng bội. Nền tảng đột biến của nó bao gồm KRAS p.Gly13Asp, PIK3CA p.His1047Arg, đột biến dị hợp tử CTNNB1 p.Ser45del giúp ổn định β -catenin và kích hoạt tín hiệu Wnt liên tục, cùng với các đột biến dịch khung đồng hợp tử trong TGFBR2 và ACVR2A – đặc trưng của các khối u đại trực tràng có MSI. Các biến thể bổ sung cũng xuất hiện ở các gen CDKN2A, EP300, BRCA2 và PPM1D. Sự tích hợp ổn định của gen báo cáo cho phép chụp ảnh theo chiều dọc các mô ghép dị chủng tại vị trí tự nhiên và dưới da trên cùng một con vật, giúp giảm quy mô nhóm nghiên cứu và loại bỏ nhu cầu xác định các điểm cuối tại mỗi thời điểm. Phương pháp chọn lọc bằng puromycin được sử dụng để duy trì gen chuyển trong quá trình nhân giống thường xuyên.

Dòng tế bào này được ứng dụng rộng rãi trong nghiên cứu tiền lâm sàng về ung thư, trong các nghiên cứu về hiệu quả của các tác nhân gây độc tế bào và tác nhân nhắm mục tiêu, trong các mô hình di căn và định hướng khối u, cũng như trong sàng lọc độc tính tế bào quy mô lớn, nơi tín hiệu phát quang cung cấp dải động rộng hơn so với các xét nghiệm màu. Vì sự biểu hiện luciferase không chịu sự điều khiển có thể kích hoạt, tín hiệu này phản ánh số lượng tế bào và trạng thái chuyển hóa thay vì hoạt động của một con đường cụ thể; do đó, các hợp chất làm thay đổi nồng độ ATP hoặc chuyển hóa tế bào có thể ảnh hưởng đến phát quang độc lập với quá trình tiêu diệt tế bào. Nên sử dụng các phương pháp thử nghiệm khả năng sống còn độc lập để xác nhận kết quả, và cần xem xét bối cảnh thiếu hụt sửa chữa không khớp (MMR) của dòng tế bào HCT 116 khi giải thích các phản ứng đối với các tác nhân gây tổn thương DNA và các liệu pháp điều hòa miễn dịch.

Organism

Con người

Tissue

Đại tràng

Disease

Ung thư đại tràng

Đặc điểm

Age

48 năm

Gender

Nam

Ethnicity

Người da trắng

Morphology

Tương tự biểu mô

Product sheet

Tế bào HCT116-Luc | 305787

Growth properties

Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Citation

HCT116-Luc (Mã sản phẩm Cytion 305787)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_C8WT

GMO Status

GMO-S1: Dòng tế bào này chứa một cassette báo cáo luciferase đom đóm (Luc2, được tối ưu hóa codon) được tích hợp ổn định thông qua quá trình truyền gen bằng lentivirus không có khả năng nhân lên. Dân số tế bào đa dòng thu được được duy trì dưới điều kiện chọn lọc bằng puromycin (1–5 µg/mL). Yêu cầu mức độ an toàn S1. Phân loại này chỉ áp dụng tại Đức và có thể khác nhau ở các quốc gia khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Antigen expression

Luc2 (đom đóm, được tối ưu hóa mã bộ ba)

Mutational profile

Đột biến: p.Lys437Argfs*5, đồng hợp tử; Đột biến: p.Ile2675Aspfs*6, dị hợp tử; Đột biến: p.Arg24Serfs*20, dị hợp tử; Đột biến: p.Ser45del, dị hợp tử; Đột biến: p.Met1470Cysfs*22, dị hợp tử; Đột biến: p.Asn1700Thrfs*9, dị hợp tử; Đột biến: p.Gly13Asp, dị hợp tử; Đột biến: p.His1047Arg, dị hợp tử; Đột biến: p.Leu450Ter, dị hợp tử; Đột biến: p.Lys128Serfs*35, đồng hợp tử

Xử lý

Culture Medium

McCoy's 5a, chứa: 3,0 g/L glucose, chứa: glutamine ổn định, chứa: 2,0 mM natri pyruvate, chứa: 2,2 g/L NaHCO₃ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820200a)

Supplements

Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy

Dissociation Reagent

Accutase

Seeding density

1–3 × 10⁴/cm²

Tế bào HCT116-Luc | 305787**Freeze medium**

Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, môi trường ẩm.

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào HCT116-Luc | 305787

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196 °C. Việc bảo quản ở -80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng và phân tích phân tử

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.