Product sheet

Лово-Люк | 305682

Обща информация

Description	LoVo-Luc е биолуминесцентно производно на човешката клетъчна линия LoVo за колоректален аденокарцином, модифицирана така, че стабилно да експресира репортерния ген на луциферазата на светулката. Първоначалната клетъчна линия LoVo е създадена от метастатичен ляв надключичен лимфен възел на колоректален аденокарцином при 56-годишен мъж и е една от най-широко използваните клетъчни линии за колоректален рак в онкологичните изследвания. Клетките LoVo притежават епителиоподобна морфология и се характеризират с микросателитна нестабилност (MSI), дефицит на репарация на несъответствията (dMMR) и експресия на онкогени, включително Myc, myb, ras, fos и p53. Тези характеристики правят LoVo подходящ модел за изучаване на биологията на колоректалния рак с дефицит на репарация на несъответствията и на терапевтичните отговори, включително чувствителността към имунотерапия. Стабилната интеграция на луцифераза в LoVo-Luc позволява чувствително, количествено биолуминесцентно изобразяване (BLI) на туморното натоварване в модели с ксенографти, използващи имунокомпрометирани приемници. Луминесцентният сигнал корелира с броя на жизнеспособните туморни клетки, което подпомага неинвазивното проследяване във времето на приживяването на тумора, кинетиката на растежа и реакцията към лечението. LoVo-Luc е особено ценен за предклинични проучвания, оценяващи инхибитори на имунните контролни точки, химиотерапевтични средства и целеви терапии в контекста на колоректален рак с дефицит на MMR, както и за скрининг на лекарства с висока производителност и механистични изследвания на биологията на колоректалния рак. LoVo-Luc запазва установените молекулярни характеристики на родителската линия LoVo, включително MSI-фенотипа, профила на експресия на онкогени и продукцията на карциноембрионален антиген (CEA). Луциферазният репортер значително повишава експерименталната производителност и позволява фармакодинамична оценка в реално време на ефикасността на лечението. Изследователите трябва да проверят активността на луциферазата, MMR статуса и кинетиката на растежа при конкретните си експериментални условия, преди да я използват в широкомащабни предклинични проучвания.
Organism	Човек
Tissue	Метастатичен
Disease	Аденокарцином на дебелото черво
Metastatic site	Ляв супраклавикуларен лимфен възел

Характеристики

Age	56 години
Gender	Мъжки
Ethnicity	Кавказки

Лово-Люк | 305682

Morphology	Подобни на епител
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	Lovo-Luc (каталожен номер на Cytion 305682)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4Y03
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия съдържа стабилно интегрирана репортерна касета с луциферазa от светулка (Luc2, кодон-оптимизирана), въведена чрез репликационно-некомпетентна лентивирусна трансдукция. Получената поликлонална клетъчна популация се поддържа при селекция с пуромицин (1–5 µg/mL). Необходимо е ниво на биологична безопасност S1. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Antigen expression	HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, кръвна група B, Luc2 (светкавица, кодон-оптимизиран)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1-2, 6PGD, A, ES-D, 1
Oncogenes	Myc +, myb + , ras +, fos +, p53 +, sis -, abl -, ros -, src -
Tumorigenic	Да, при голи мишки
Reverse transcriptase	Отрицателен
Products	Карциноембрионален антиген (CEA) 908 ng/106 клетки/10 дни
Mutational profile	Мутация: p.Lys437Argfs*5, хетерозиготна; Мутация: p.Arg1114Ter, хетерозиготна; Мутация: p.Met1431fs*42, хетерозиготна; Мутация: p.Arg2816Gln, хетерозиготна; Мутация: p.Leu15Phefs*41, хетерозиготна; Мутация: p.Arg505Cys, хетерозиготна; Мутация: p.Gly13Asp, хетерозиготна; Мутация: p.Ala292Val, хетерозиготна; Мутация: p.Lys128Serfs*35, хомозиготна

Лово-Люк | 305682

Работа с

Culture Medium	HAMSF12
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24–48 часа
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Split ratio	от 1 до 3
Seeding density	1 до 3 x 10^4 клетки/cm^2
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна хранителна среда + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 200 x g в продължение на 5 минути, внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща средата за замразяване.

7. Следвайте процедурата, описана в раздел "Възстановяване след размразяване"

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ