

Lovo-Luc | 305682

Obecné informace

Description

LoVo-Luc je bioluminiscenční derivát lidské buněčné linie LoVo pocházející z adenokarcinomu tlustého střeva, který byl geneticky upraven tak, aby stabilně exprimoval reportérový gen luciferázy světlušky. Původní buněčná linie LoVo byla izolována z metastatické levé supraklavikulární lymfatické uzliny u 56letého pacienta s adenokarcinomem tlustého střeva a je jednou z nejčastěji používaných buněčných linií kolorektálního karcinomu v onkologickém výzkumu. Buňky LoVo vykazují epiteliální morfologii a vyznačují se mikrosatelitní nestabilitou (MSI), deficitem opravy nesouladu (dMMR) a expresí onkogenů, včetně Myc, myb, ras, fos a p53. Díky těmto vlastnostem je LoVo vhodným modelem pro studium biologie kolorektálního karcinomu s deficitem opravy nesouladu a terapeutických reakcí, včetně citlivosti na imunoterapii.

Stabilní integrace luciferázy v buňkách LoVo-Luc umožňuje citlivé, kvantitativní bioluminiscenční zobrazování (BLI) nádorové zátěže v modelech xenotransplantátů s použitím imunokompromitovaných hostitelů. Luminiscenční signál koreluje s počtem životaschopných nádorových buněk, což umožňuje neinvazivní longitudinální sledování přihojení nádoru, kinetiku růstu a odezvy na léčbu. LoVo-Luc je obzvláště cenný pro předklinické studie hodnotící inhibitory imunitních kontrolních bodů, chemoterapeutická činidla a cílené terapie v kontextu kolorektálního karcinomu s deficitem MMR, stejně jako pro vysoce výkonné screeningové testy léčiv a mechanistické výzkumy biologie kolorektálního karcinomu.

LoVo-Luc si zachovává zavedené molekulární charakteristiky mateřské linie LoVo, včetně jejího MSI fenotypu, profilu exprese onkogenů a produkce karcinoembryonálního antigenu (CEA). Luciferázový reportér podstatně zvyšuje experimentální propustnost a umožňuje farmakodynamické hodnocení účinnosti léčby v reálném čase. Výzkumníci by měli před použitím v rozsáhlých předklinických studiích ověřit aktivitu luciferázy, stav MMR a růstovou kinetiku za svých specifických experimentálních podmínek.

Organism

Člověk

Tissue

Metastatické

Disease

Adenokarcinom tlustého střeva

Metastatic site

Levá nadklíčková lymfatická uzlina

Charakteristika

Age

56 let

Gender

Muži

Ethnicity

Kavkazský

Morphology

Epitelu podobné

Lovo-Luc | 305682

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Citation

Lovo-Luc (katalogové číslo Cytion 305682)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_4Y03

GMO Status

GMO-S1: Tato buněčná linie obsahuje stabilně integrovanou reportérovou kazetu s luciferázou světlušky (Luc2, s optimalizovanými kodony), která byla zavedena pomocí lentivirové transdukce s neschopností replikace. Výsledná polyklonální buněčná populace byla udržována pod selekcí puromycinem (1–5 µg/ml). Je vyžadována bezpečnostní třída S1. Tato klasifikace platí pouze v Německu a v jiných zemích se může lišit.

Biomolekulární data

Antigen expression

HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, krevní skupina B, Luc2 (světluška, kodonově optimalizovaný)

Isoenzymes

G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1-2, 6PGD, A, ES-D, 1

Oncogenes

Myc +, myb +, ras +, fos +, p53 +, sis -, abl -, ros -, src -

Tumorigenic

Ano, u nahých myší

Reverse transcriptase

Negativní

Products

Karcinoembryonální antigen (CEA) 908 ng/106 buněk/10 dní

Mutational profile

Mutace: p.Lys437Argfs*5, heterozygotní; Mutace: p.Arg1114Ter, heterozygotní; Mutace: p.Met1431fs*42, heterozygotní; Mutace: p.Arg2816Gln, heterozygotní; Mutace: p.Leu15Phefs*41, heterozygotní; Mutace: p.Arg505Cys, heterozygotní; Mutace: p.Gly13Asp, heterozygotní; Mutace: p.Ala292Val, heterozygotní; Mutace: p.Lys128Serfs*35, homozygotní

Zpracování

Lovo-Luc | 305682

Culture Medium	Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutamin, w: 2,0 mM Pyruvát sodný, w: 2,5 g/l NaHCO ₃ (číslo článku Cytion 820608a)
-----------------------	---

Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
--------------------	--------------------------

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

Doubling time	24–48 hodin
----------------------	-------------

Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
---------------------	--

Split ratio	1 až 3
--------------------	--------

Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
------------------------	-------------------------------

Fluid renewal	2 až 3krát týdně
----------------------	------------------

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.
----------------------	--

Lovo-Luc | 305682

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení buď okamžitě uložte kryovialku při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 200 x g po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte.
7. Postupujte podle postupu popsaneho v části Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiwa, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza