

Lovo-Luc | 305682

Generel information

Description

LoVo-Luc er et bioluminescerende derivat af den humane LoVo-cellelinje fra kolorektalt adenokarcinom, der er genetisk modificeret til stabilt at udtrykke et reportergen baseret på ildflue-luciferase. Den oprindelige LoVo-cellelinje blev etableret ud fra en metastatisk venstre supraklavikulær lymfeknude fra et kolorektalt adenokarcinom hos en 56-årig mandlig patient og er en af de mest anvendte kolorektale kræftceller inden for kræftforskning. LoVo-celler udviser epitelagtig morfologi og er karakteriseret ved mikrosatellitustabilitet (MSI), mangelfuld mismatch-reparation (dMMR) og ekspresion af onkogener, herunder Myc, myb, ras, fos og p53. Disse egenskaber gør LoVo til en relevant model til undersøgelse af biologien bag kolorektal kræft med mangelfuld mismatch-reparation samt terapeutiske responser, herunder følsomhed over for immunterapi.

Den stabile luciferase-integration i LoVo-Luc muliggør følsom, kvantitativ bioluminescensbilleddannelse (BLI) af tumorbyrden i xenotransplantatmodeller ved brug af immunsvækkede værter. Det luminescerende signal korrelerer med antallet af levedygtige tumorceller, hvilket understøtter ikke-invasiv, langvarig overvågning af tumorens inkorporering, vækstkinetik og behandlingsrespons. LoVo-Luc er særligt værdifuld til prækliniske studier, der evaluerer immuncheckpoint-hæmmere, kemoterapeutiske midler og målrettede terapier i forbindelse med MMR-defekt kolorektal cancer, samt til højkapacitetslægemiddelscreening og mekanistiske undersøgelser af kolorektal cancers biologi.

LoVo-Luc bevarer de etablerede molekulære egenskaber fra den oprindelige LoVo-stamme, herunder dens MSI-fænotype, onkogenekspressionsprofil og produktion af karcinoembryonalt antigen (CEA). Luciferase-reporteren forbedrer den eksperimentelle gennemstrømning væsentligt og muliggør farmakodynamisk vurdering af behandlingseffektiviteten i realtid. Forskere bør verificere luciferaseaktivitet, MMR-status og vækstkinetik under deres specifikke eksperimentelle betingelser, inden den anvendes i prækliniske studier i stor skala.

Organism

Menneske

Tissue

Metastatisk

Disease

Adenokarcinom i tyktarmen

Metastatic site

Venstre supraklavikulær lymfeknude

Karakteristika

Age

56 år

Gender

Mand

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Epitel-lignende

Lovo-Luc | 305682

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data**Citation**

Lovo-Luc (Cytion-katalognummer 305682)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_4Y03

GMO Status

GMO-S1: Denne cellelinje indeholder en stabilt integreret reporter-kassette med ildflue-luciferase (Luc2, kodonoptimeret), der er indført via replikationsinkompetent lentiviral transduktion. Den resulterende polyklonale cellepopulation blev opretholdt under puromycin-selektion (1–5 µg/mL). S1-indeslutning er påkrævet. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data**Antigen expression**

HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, blodtype B, Luc2 (ildflue, kodonoptimeret)

Isoenzymes

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

Oncogenes

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

Tumorigenic

Yeees, i nøgne mus

Reverse transcriptase

Negativ

Products

Carcinoembryonalt antigen (CEA) 908 ng/106 celler/10 dage

Mutational profile

Mutation: p.Lys437Argfs*5, heterozygot; Mutation: p.Arg1114Ter, heterozygot; Mutation: p.Met1431fs*42, heterozygot; Mutation: p.Arg2816Gln, heterozygot; Mutation: p.Leu15Phefs*41, heterozygot; Mutation: p.Arg505Cys, heterozygot; Mutation: p.Gly13Asp, heterozygot; Mutation: p.Ala292Val, heterozygot; Mutation: p.Lys128Serfs*35, homozygot

Håndtering

Lovo-Luc | 305682

Culture Medium	Ham's F12K Medium, m: 2,0 mM L-Glutamin, m: 2,0 mM Natriumpyruvat, m: 2,5 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820608a)
-----------------------	---

Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
--------------------	----------------------------

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

Doubling time	24–48 timer
----------------------	-------------

Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
---------------------	---

Split ratio	1 til 3
--------------------	---------

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

Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
----------------------	-----------------------

Freeze medium	Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium + 10 % DMSO for at opnå tilstrækkelig levedygtighed efter optøning.
----------------------	---

Lovo-Luc | 305682

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelse skal du enten opbevare kryohætteglasset med det samme ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller fortsætte til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 200 x g i 5 minutter, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder frysemedium.
7. Følg proceduren beskrevet under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellerlinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse