Product sheet

Λόβο-Λουκ | 305682

Γενικές πληροφορίες

Description	Το LoVo-Luc είναι ένα βιοφωταυγές παράγωγο της ανθρώπινης κυτταρικής σειράς LoVo, που προέρχεται από αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου, και έχει τροποποιηθεί γενετικά ώστε να εκφράζει σταθερά ένα γονίδιο-δείκτη λουσιφεράσης πυγολαμπίδας. Η μητρική κυτταρική σειρά LoVo δημιουργήθηκε από έναν μεταστατικό αριστερό υπερκλείδιο λεμφαδένα ενός αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου σε έναν 56χρονο άνδρα ασθενή και αποτελεί μία από τις πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες κυτταρικές σειρές καρκίνου του παχέος εντέρου στην έρευνα για τον καρκίνο. Τα κύτταρα LoVo παρουσιάζουν επιθηλιακή μορφολογία και χαρακτηρίζονται από αστάθεια μικροδορυφόρων (MSI), ανεπαρκή επιδιόρθωση αναντιστοιχιών (dMMR) και έκφραση ογκογονιδίων, συμπεριλαμβανομένων των Myc, myb, ras, fos και p53. Αυτά τα χαρακτηριστικά καθιστούν το LoVo ένα κατάλληλο μοντέλο για τη μελέτη της βιολογίας του καρκίνου του παχέος εντέρου με ανεπάρκεια επιδιόρθωσης αναντιστοιχιών και των θεραπευτικών αποκρίσεων, συμπεριλαμβανομένης της ευαισθησίας στην ανοσοθεραπεία. Η σταθερή ενσωμάτωση της λουσιφεράσης στο LoVo-Luc επιτρέπει την ευαίσθητη, ποσοτική απεικόνιση βιοφωταύγειας (BLI) του όγκου σε μοντέλα ξενομοσχεύματος με χρήση ανοσοκατεσταλμένων ξενιστών. Το φωταύγειο σήμα συσχετίζεται με τον αριθμό των βιώσιμων καρκινικών κυττάρων, υποστηρίζοντας τη μη επεμβατική διαχρονική παρακολούθηση της εμφύτευσης του όγκου, της κινητικής ανάπτυξης και της ανταπόκρισης στη θεραπεία. Το LoVo-Luc είναι ιδιαίτερα πολύτιμο για προκλινικές μελέτες που αξιολογούν αναστολείς ανοσολογικών σημείων ελέγχου, χημειοθεραπευτικά φάρμακα και στοχευμένες θεραπείες στο πλαίσιο του καρκίνου του παχέος εντέρου με ανεπάρκεια MMR, καθώς και για διαλογή φαρμάκων υψηλής απόδοσης και μηχανιστικές έρευνες της βιολογίας του καρκίνου του παχέος εντέρου. Το LoVo-Luc διατηρεί τα καθιερωμένα μοριακά χαρακτηριστικά της γονικής σειράς LoVo, συμπεριλαμβανομένου του φαινοτύπου MSI, του προφίλ έκφρασης ογκογονιδίων και της παραγωγής καρκινοεμβρυϊκού αντιγόνου (CEA). Ο αναφορέας λουσιφεράσης ενισχύει σημαντικά την πειραματική απόδοση και επιτρέπει τη φαρμακοδυναμική αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας σε πραγματικό χρόνο. Οι ερευνητές θα πρέπει να επαληθεύουν τη δραστηριότητα της λουσιφεράσης, την κατάσταση του MMR και την κινητική ανάπτυξης υπό τις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες τους πριν από τη χρήση σε προκλινικές μελέτες μεγάλης κλίμακας.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Μεταστατικό
Disease	Αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου
Metastatic site	Αριστερός υπερκλείδιος λεμφαδένας

Χαρακτηριστικά

Age	56 χρόνια
Gender	Άντρας

Λόβο-Λουκ | 305682

Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	Lovo-Luc (αριθμός καταλόγου Cytion 305682)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4Y03
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά περιέχει μια σταθερά ενσωματωμένη κασέτα αναφοράς λουσιφεράσης πυγολαμπίδας (Luc2, με βελτιστοποιημένα κωδόνια), η οποία εισήχθη μέσω λεντιϊκής μεταγωγής χωρίς ικανότητα αναπαραγωγής. Ο προκύπτων πολυκλωνικός κυτταρικός πληθυσμός διατηρήθηκε υπό επιλογή με πουρομυκίνη (1–5 μg/mL). Απαιτείται περιορισμός S1. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Antigen expression	HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, ομάδα αίματος B, Luc2 (πυγολαμπίδα, με βελτιστοποιημένα κωδόνια)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1-2, 6PGD, A, ES-D, 1
Oncogenes	Myc +, myb + , ras +, fos +, p53 +, sis -, abl -, ros -, src -
Tumorigenic	Ναι, σε γυμνά ποντίκια
Reverse transcriptase	Αρνητικό
Products	Καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA) 908 ng/106 κύτταρα/10 ημέρες

Λόβο-Λουκ | 305682

Mutational profile	Μετάλλαξη: p.Lys437Argfs*5, ετερόζυγη· Μετάλλαξη: p.Arg1114Ter, ετερόζυγη· Μετάλλαξη: p.Met1431fs*42, ετερόζυγη· Μετάλλαξη: p.Arg2816Gln, ετερόζυγη· Μετάλλαξη: p.Leu15Phefs*41, ετερόζυγη· Μετάλλαξη: p.Arg505Cys, ετερόζυγη· Μετάλλαξη: p.Gly13Asp, ετερόζυγος· Μετάλλαξη: p.Ala292Val, ετερόζυγος· Μετάλλαξη: p.Lys128Serfs*35, ομόζυγος

Χειρισμός

Culture Medium	HAMSF12
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24-48 ώρες
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Split ratio	1 έως 3
Seeding density	1 έως 3 x 10^4 κύτ^{ταρα}/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρήστε το μείγμα στα 200 x g για 5 λεπτά, απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το μέσο κατάψυξης.

7. Ακολουθήστε τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα Ανάκτηση μετά την απόψυξη

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση