

Lovo-Luc | 305682

Üldine teave

Description

LoVo-Luc on inimese LoVo kolorektaalse adenokartsinoomi rakuliini bioluminestsentne derivaat, mis on geneetiliselt muundatud nii, et see ekspresseeriks stabiilselt tulikärbsse lucifereesi reportergeeni. Algne LoVo rakuliin loodi 56-aastase meespatsiendi kolorektaalse adenokartsinoomi metastaatilise vasaku supraklavikulaarse lümfisõlme põhjal ning on üks vähktõveuuringutes enim kasutatavaid kolorektaalse vähi rakuliine. LoVo-rakud on epiteelilaadse morfoloogiaga ning neil on iseloomulik mikrosatelliitide ebastabiilsus (MSI), puudulik mismatch-parandus (dMMR) ja onkogeenide, sealhulgas Myc, myb, ras, fos ja p53 ekspressioon. Need omadused teevad LoVo-st asjakohase mudeli mismatch-parandusdefitsiidiga kolorektaalvähi bioloogia ja ravivastuste, sealhulgas immunoteraapia suhtes tundlikkuse uurimiseks.

Stabiilne lusiferaasi integratsioon LoVo-Luc-is võimaldab immuunpuudulikkusega peremeesorganismidel kasutatavates ksenotransplantaadi mudelites teostada tundlikku ja kvantitatiivset bioluminestsentskuvamist (BLI) kasvajakoomuse hindamiseks. Lumineestentssignaal korreleerub eluvõimeliste kasvajakude arvuga, toetades kasvaja juurdumise, kasvukineetika ja ravivastuse mitteinvasiivset pikaajalist jälgimist. LoVo-Luc on eriti väärtuslik prekliinilistes uuringutes, kus hinnatakse immuunkontrollpunkti inhibiitoreid, kemoteraapiavahendeid ja sihtterapioid MMR-defitsiidiga kolorektaalvähi kontekstis, samuti suure läbilaskevõimega ravimite sõelumisel ja kolorektaalvähi bioloogia mehhanismide uurimisel.

LoVo-Luc säilitab emaliini LoVo väljakujunenud molekulaarsed omadused, sealhulgas MSI-fenotüübi, onkogeeni ekspressiooniprofiili ja kartsinoembrüonaalse antigeeni (CEA) tootmise. Lusiferaasi-reporter suurendab oluliselt eksperimendi läbilaskevõimet ja võimaldab ravi tõhususe reaalajas farmakodünaamilist hindamist. Teadlased peaksid enne laialtlevitatud prekliinilistes uuringutes kasutamist kontrollima lusiferaasi aktiivsust, MMR-staatus ja kasvukineetikat oma konkreetsetes katsetingimustes.

Organism

Inimene

Tissue

Metastaatiline

Disease

Jämesoole adenokartsinoom

Metastatic site

Vasakpoolne supraklavikulaarne lümfisõlm

Omadused

Age

56 aastat

Gender

Mees

Ethnicity

Kaukaasia

Morphology

Epiteelilaadsed

Lovo-Luc | 305682

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

Lovo-Luc (Cytioni katalooginumber 305682)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_4Y03

GMO Status

GMO-S1: See rakuliin sisaldab stabiilselt integreeritud tulikärbselucifereesi reporter-kasseti (Luc2, kodonoptimeeritud), mis on viidud sisse replikatsioonivõimega lentiiviruse transduktsiooni teel. Saadud polükloooniline rakupopulatsioon hoiti puromütsiini selektsiooni all (1–5 µg/ml). Nõutav on S1-ohutustase. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression

HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, veregrupp B, Luc2 (tulikärbes, kodonoptimeeritud)

Isoenzymes

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

Oncogenes

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

Tumorigenic

Jah, alasti hiirtel

Reverse transcriptase

Negatiivne

Products

Kartsinoembüooniline antigeen (CEA) 908 ng/106 rakku/10 päeva

Mutational profile

Mutatsioon: p.Lys437Argfs*5, heterosügootne; Mutatsioon: p.Arg1114Ter, heterosügootne; Mutatsioon: p.Met1431fs*42, heterosügootne; Mutatsioon: p.Arg2816Gln, heterosügootne; Mutatsioon: p.Leu15Phefs*41, heterosügootne; Mutatsioon: p.Arg505Cys, heterosügootne; Mutatsioon: p.Gly13Asp, heterosügootne; Mutatsioon: p.Ala292Val, heterosügootne; Mutatsioon: p.Lys128Serfs*35, homosügootne

Töötlemine

Lovo-Luc | 305682

Culture Medium	Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutamiin, w: 2,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,5 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820608a)
-----------------------	--

Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
--------------------	-----------------------------

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

Doubling time	24–48 tundi
----------------------	-------------

Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
---------------------	---

Split ratio	1–3
--------------------	-----

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

Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
----------------------	------------------------

Freeze medium	Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.
----------------------	--

Lovo-Luc | 305682

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Tsentrifuugige segu 5 minutit $200 \times g$ juures, visake ettevaatlikult ära külmutusvedelikku sisaldav supernatant.
7. Järgige punktis "Taastamisjärgne taastamine" kirjeldatud menetlust

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196°C juures. Säilitamine temperatuuril -80°C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs