

Lovo-Luc | 305682

Yleisiä tietoja

Description

LoVo-Luc on ihmisen LoVo-kolorektaalisen adenokarsinooman solulinjan bioluminesoiva johdannainen, joka on muokattu ilmentämään vakaasti tulikärpäsän lusiferaasi-raportointigeeniä. Alkuperäinen LoVo-solulinja perustettiin 56-vuotiaan miespotilaan kolorektaalisen adenokarsinooman metastaattisesta vasemmasta supraklavikulaarisesta imusolmukkeesta, ja se on yksi syöpätutkimuksessa yleisimmin käytetyistä kolorektaalisyöpäsolulinjoista. LoVo-soluilla on epiteelin kaltainen morfologia, ja niille on ominaista mikrosatelliittien epävakaumus (MSI), puutteellinen mismatch-korjaus (dMMR) sekä onkogeneenien, kuten Myc:n, myb:n, ras:n, fos:n ja p53:n, ilmentyminen. Nämä ominaisuudet tekevät LoVo-solulinjasta merkittävän mallin, jolla voidaan tutkia mismatch-korjauspuutteen kolorektaalisyövän biologiaa ja hoitovasteita, mukaan lukien herkkyys immunoterapialle.

LoVo-Luc-solulinjan vakaa lusiferaasi-integraatio mahdollistaa herkän ja kvantitatiivisen bioluminesenssikuvantamisen (BLI) kasvaimen kuormituksen mittaamiseksi ksenotransplantaattimalleissa, joissa käytetään immuunipuutteisia isäntäeläimiä. Luminesenssisignaali korreloi elävien kasvainsolujen lukumäärän kanssa, mikä tukee kasvaimen kiinnittymisen, kasvukineettisten ominaisuuksien ja hoitovasteen ei-invasiivista pitkäaikaistutkimusta. LoVo-Luc on erityisen arvokas prekliinisissä tutkimuksissa, joissa arvioidaan immuunivalvontapisteiden estäjiä, kemoterapeuttisia aineita ja kohdennettuja hoitoja MMR-puutteellisen kolorektaalisyövän yhteydessä, sekä suurikapasiteetisessa lääkeaineiden seulonnassa ja kolorektaalisyövän biologian mekanistisissa tutkimuksissa.

LoVo-Luc säilyttää emolinjan LoVo vakiintuneet molekyyliset ominaisuudet, mukaan lukien sen MSI-fenotyyppin, onkogeneenien ilmentymisprofiilin ja karsinoembryonaalisen antigeenin (CEA) tuotannon. Lusiferaasi-raportteri parantaa merkittävästi kokeiden läpimenokapasiteettia ja mahdollistaa hoidon tehokkuuden reaaliaikaisen farmakodynaamisen arvioinnin. Tutkijoiden tulee tarkistaa lusiferaasiaktiivisuus, MMR-tila ja kasvukineettiset ominaisuudet omissa kokeellisissa olosuhteissaan ennen tuotteen käyttöä laajamittaisissa prekliinisissä tutkimuksissa.

Organism

Ihminen

Tissue

Metastaattinen

Disease

Paksusuolen adenokarsinooma

Metastatic site

Vasen supraklavikulaarinen imusolmuke

Ominaisuudet

Age

56 vuotta

Gender

Mies

Ethnicity

Kaukasialainen

Lovo-Luc | 305682

Morphology Epiteelin kaltainen

Growth properties Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation Lovo-Luc (Cytion-tuotenumero 305682)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4Y03

GMO Status GMO-S1: Tämä solulinja sisältää vakaasti integroidun tulikärpäsän lusiferaasi-raportointikasetin (Luc2, kodonien suhteen optimoitu), joka on tuotu soluihin replikaatiokyvyttömän lentiviruksen välityksellä. Tuloksena saatu polyklonaalinen solupopulaatio ylläpidettiin puromysiiniselektiossa (1–5 µg/ml). S1-turvaluokitus vaaditaan. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.

Biomolekyyli tiedot

Antigen expression HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, veriryhmä B, Luc2 (tulikärpäsän, kodonoptimoitu)

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

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

Tumorigenic Kyllä, alastomilla hiirillä

Reverse transcriptase Negatiivinen

Products Karsinoembryoninen antigeeni (CEA) 908 ng/106 solua/10 päivää

Mutational profile Mutaatio: p.Lys437Argfs*5, heterotsygootti; Mutaatio: p.Arg1114Ter, heterotsygootti; Mutaatio: p.Met1431fs*42, heterotsygootti; Mutaatio: p.Arg2816Gln, heterotsygootti; Mutaatio: p.Leu15Phefs*41, heterotsygootti; Mutaatio: p.Arg505Cys, heterotsygootti; Mutaatio: p.Gly13Asp, heterotsygootti; Mutaatio: p.Ala292Val, heterotsygootti; Mutaatio: p.Lys128Serfs*35, homotsygootti

Käsittely

Lovo-Luc | 305682

Culture Medium	Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutamiinia, w: 2,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,5 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820608a)
-----------------------	--

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
--------------------	---

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

Doubling time	24–48 tuntia
----------------------	--------------

Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irttoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
---------------------	--

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

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

Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
----------------------	---------------------

Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa + 10 % DMSO:ta, jotta elinkelpoisuus olisi riittävä sulatuksen jälkeen.
----------------------	---

Lovo-Luc | 305682

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 200 x g:n voimakkuudella 5 minuuttia ja hävitä varovasti pakastusmediaa sisältävä supernatantti.
7. Noudatetaan kohdassa Sulattamisen jälkeinen talteenotto kuvattua menettelyä

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi