

Lovo-Luc | 305682

Informations générales

Description

LoVo-Luc est un dérivé bioluminescent de la lignée cellulaire humaine LoVo issue d'un adénocarcinome colorectal, modifiée génétiquement pour exprimer de manière stable un gène rapporteur codant pour la luciférase de luciole. La lignée cellulaire parentale LoVo a été établie à partir d'un ganglion lymphatique supraclaviculaire gauche métastatique issu d'un adénocarcinome colorectal chez un patient de 56 ans ; elle compte parmi les lignées cellulaires de cancer colorectal les plus largement utilisées dans la recherche sur le cancer. Les cellules LoVo présentent une morphologie de type épithélial et se caractérisent par une instabilité des microsatellites (MSI), un déficit en réparation des mésappariements (dMMR) et l'expression d'oncogènes, notamment Myc, myb, ras, fos et p53. Ces caractéristiques font de LoVo un modèle pertinent pour l'étude de la biologie du cancer colorectal présentant un déficit en réparation des mésappariements et des réponses thérapeutiques, y compris la sensibilité à l'immunothérapie.

L'intégration stable de la luciférase dans la lignée LoVo-Luc permet une imagerie par bioluminescence (BLI) sensible et quantitative de la charge tumorale dans des modèles de xénogreffes utilisant des hôtes immunodéprimés. Le signal luminescent est en corrélation avec le nombre de cellules tumorales viables, ce qui permet un suivi longitudinal non invasif de la prise de greffe, de la cinétique de croissance et de la réponse au traitement. LoVo-Luc est particulièrement utile pour les études précliniques évaluant les inhibiteurs de points de contrôle immunitaires, les agents chimiothérapeutiques et les thérapies ciblées dans le contexte du cancer colorectal présentant un déficit en MMR, ainsi que pour le criblage de médicaments à haut débit et les études mécanistiques de la biologie du cancer colorectal.

LoVo-Luc conserve les caractéristiques moléculaires établies de la lignée parentale LoVo, notamment son phénotype MSI, son profil d'expression des oncogènes et la production de l'antigène carcino-embryonnaire (CEA). Le rapporteur luciférase améliore considérablement le débit expérimental et permet une évaluation pharmacodynamique en temps réel de l'efficacité du traitement. Les chercheurs doivent vérifier l'activité de la luciférase, le statut MMR et la cinétique de croissance dans leurs conditions expérimentales spécifiques avant toute utilisation dans le cadre d'études précliniques à grande échelle.

Organism

Humain

Tissue

Métastatique

Disease

Adénocarcinome du côlon

Metastatic site

Ganglion lymphatique supraclaviculaire gauche

Caractéristiques

Age

56 ans

Gender

Homme

Ethnicity

Caucasien

Lovo-Luc | 305682

Morphology De type épithélial**Growth properties** Adhérent

Données réglementaires

Citation Lovo-Luc (référence Cytion 305682)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4Y03

GMO Status GMO-S1 : Cette lignée cellulaire contient une cassette de rapporteur à base de luciférase de luciole (Luc2, optimisée au niveau des codons) intégrée de manière stable, introduite par transduction lentivirale à réplication incompétente. La population cellulaire polyclonale ainsi obtenue a été maintenue sous sélection à la puromycine (1 à 5 µg/mL). Un confinement de niveau S1 est requis. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut varier dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Antigen expression HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, groupe sanguin B, Luc2 (luciole, codon optimisé)**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1-2, 6PGD, A, ES-D, 1**Oncogenes** Myc +, myb +, ras +, fos +, p53 +, sis -, abl -, ros -, src -**Tumorigenic** Oui, sur des souris nues**Reverse transcriptase** Négatif**Products** Antigène carcino-embryonnaire (CEA) 908 ng/106 cellules/10 jours

Mutational profile Mutation : p.Lys437Argfs*5, hétérozygote ; Mutation : p.Arg1114Ter, hétérozygote ; Mutation : p.Met1431fs*42, hétérozygote ; Mutation : p.Arg2816Gln, hétérozygote ; Mutation : p.Leu15Phefs*41, hétérozygote ; Mutation : p.Arg505Cys, hétérozygote ; Mutation : p.Gly13Asp, hétérozygote ; Mutation : p.Ala292Val, hétérozygote ; Mutation : p.Lys128Serfs*35, homozygote

Lovo-Luc | 305682

Manipulation

Culture Medium	Milieu Ham's F12K, w : 2.0 mM L-Glutamine, w : 2.0 mM Sodium pyruvate, w : 2.5 g/L NaHCO ₃ (numéro d'article Cytion 820608a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 à 48 heures
Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Split ratio	1 à 3
Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation.

Lovo-Luc | 305682

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 200 x g pendant 5 minutes, jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation.
7. Suivre la procédure décrite sous Récupération après décongélation

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire