

Lovo-Luc | 305682

Általános információk

Description

A LoVo-Luc az emberi LoVo kolorektális adenokarcinóma sejtvonal biolumineszcens származéka, amelyet úgy alakítottak ki, hogy stabilan kifejezze a szentjánosbogár-luciferáz riportergént. Az eredeti LoVo sejtvonalat egy 56 éves férfi beteg kolorektális adenokarcinómájának metasztatikus bal supraclavicularis nyirokcsomójából állították elő, és ez az egyik legszélesebb körben használt kolorektális ráksejtvonal a rákkutatásban. A LoVo-sejtek epiteliális jellegű morfológiát mutatnak, és mikroszatellit-instabilitás (MSI), hiányos mismatch-javítás (dMMR), valamint olyan onkogének expressziója jellemzi őket, mint a Myc, myb, ras, fos és p53. Ezek a jellemzők teszik a LoVo-t releváns modellé a mismatch-javítási hiányossággal járó kolorektális rák biológiájának és terápiás válaszainak – beleértve az immunterápiára való érzékenységet is – tanulmányozásához.

A LoVo-Luc-ban található stabil luciferáz-integráció lehetővé teszi a tumorterhelés érzékeny, kvantitatív biolumineszcens képalkotását (BLI) immunhiányos gazdaszervezeteket felhasználó xenotranszplantációs modellekben. A lumineszcens jel korrelál az életképes tumorsejtek számával, ami támogatja a tumor beültetésének, növekedési kinetikájának és a kezelésre adott válasz nem invazív, longitudinális monitorozását. A LoVo-Luc különösen értékes az MMR-hiányos kolorektális rák kontextusában az immunellenőrző pont-gátlók, a kemoterápiás szerek és a célzott terápiák értékelésére irányuló preklinikai vizsgálatokhoz, valamint a nagy áteresztőképességű gyógyszerészüreshez és a kolorektális rák biológiájának mechanisztikus kutatásához.

A LoVo-Luc megőrzi a szülői LoVo-vonal jól ismert molekuláris jellemzőit, beleértve az MSI-fenotípust, az onkogén-expressziós profilt és a karcinoembrionális antigén (CEA) termelését. A luciferáz-riporter jelentősen növeli a kísérleti áteresztőképességet, és lehetővé teszi a kezelés hatékonyságának valós idejű farmakodinamikai értékelését. A kutatóknak a nagyszabású preklinikai vizsgálatokban való felhasználás előtt saját kísérleti körülményeik között ellenőrizniük kell a luciferáz-aktivitást, az MMR-státuszt és a növekedési kinetikát.

Organism

Emberi

Tissue

Metasztatikus

Disease

Vastagbél adenokarcinóma

Metastatic site

Bal supraclavicularis nyirokcsomó

Jellemzők

Age

56 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Epithelszerű

Lovo-Luc | 305682

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

Lovo-Luc (Cytion katalógusszám: 305682)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_4Y03

GMO Status

GMO-S1: Ez a sejtvonal egy stabilan integrált szentjánosbogár-luciferáz riporterkazettát (Luc2, kodonoptimalizált) tartalmaz, amelyet replikációra képtelen lentivirális transzdukcióval juttattak be. A kapott poliklonális sejtpopulációt puromicin-szelekció (1–5 µg/mL) mellett tartották fenn. S1-es biztonsági besorolás szükséges. Ez a besorolás kizárólag Németország területén érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

Antigen expression

HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, B vércsoport, Luc2 (szentjánosbogár, kodonoptimalizált)

Isoenzymes

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

Oncogenes

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

Tumorigenic

Igen, meztelen egerekben

Reverse transcriptase

Negatív

Products

Karcinoembrionális antigén (CEA) 908 ng/106 sejt/10 nap

Mutational profile

Mutáció: p.Lys437Argfs*5, heterozigóta; Mutáció: p.Arg1114Ter, heterozigóta; Mutáció: p.Met1431fs*42, heterozigóta; Mutáció: p.Arg2816Gln, heterozigóta; Mutáció: p.Leu15Phefs*41, heterozigóta; Mutáció: p.Arg505Cys, heterozigóta; Mutáció: p.Gly13Asp, heterozigóta; Mutáció: p.Ala292Val, heterozigóta; Mutáció: p.Lys128Serfs*35, homozigóta

A kezelése

Lovo-Luc | 305682

Culture Medium	Ham's F12K médium, w: 2,0 mM L-Glutamin, w: 2,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,5 g/L NaHCO ₃ (Cytion cikkszám 820608a)
-----------------------	---

Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
--------------------	--

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

Doubling time	24–48 óra
----------------------	-----------

Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
---------------------	---

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

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

Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
----------------------	------------------------

Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében.
----------------------	---

Lovo-Luc | 305682

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és felnyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $200 \times g$ -nél 5 percig, a fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót óvatosan dobjuk el.
7. Kövesse a felolvasztás utáni helyreállításnál leírt eljárást

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés