

Lovo-Luc | 305682

Informazioni generali

Description

LoVo-Luc è un derivato bioluminescente della linea cellulare umana LoVo, derivata da un adenocarcinoma coloretale, ingegnerizzata per esprimere in modo stabile un gene reporter codificante la luciferasi della lucciola. La linea cellulare parentale LoVo è stata ottenuta da un linfonodo sopraclaveare sinistro metastatico di un adenocarcinoma coloretale in un paziente maschio di 56 anni ed è una delle linee cellulari di cancro coloretale più ampiamente utilizzate nella ricerca sul cancro. Le cellule LoVo presentano una morfologia di tipo epiteliale e sono caratterizzate da instabilità dei microsatelliti (MSI), deficit di riparazione dei mismatch (dMMR) ed espressione di oncogeni quali Myc, myb, ras, fos e p53. Queste caratteristiche rendono LoVo un modello rilevante per lo studio della biologia del carcinoma coloretale con deficit di riparazione del mismatch e delle risposte terapeutiche, compresa la sensibilità all'immunoterapia.

L'integrazione stabile della luciferasi in LoVo-Luc consente un'imaging bioluminescente (BLI) sensibile e quantitativo del carico tumorale in modelli di xenotrapianto che utilizzano ospiti immunocompromessi. Il segnale luminescente è correlato al numero di cellule tumorali vitali, consentendo il monitoraggio longitudinale non invasivo dell'attecchimento del tumore, della cinetica di crescita e della risposta al trattamento. LoVo-Luc è particolarmente utile per studi preclinici volti a valutare inibitori dei checkpoint immunitari, agenti chemioterapici e terapie mirate nel contesto del carcinoma coloretale con deficit di MMR, nonché per lo screening farmacologico ad alta produttività e le indagini meccanicistiche sulla biologia del carcinoma coloretale.

LoVo-Luc conserva le caratteristiche molecolari consolidate della linea parentale LoVo, tra cui il fenotipo MSI, il profilo di espressione degli oncogeni e la produzione dell'antigene carcinoembrionale (CEA). Il reporter a base di luciferasi migliora notevolmente la produttività sperimentale e consente una valutazione farmacodinamica in tempo reale dell'efficacia del trattamento. I ricercatori dovrebbero verificare l'attività della luciferasi, lo stato MMR e la cinetica di crescita nelle loro specifiche condizioni sperimentali prima dell'utilizzo in studi preclinici su larga scala.

Organism

Umano

Tissue

Metastatico

Disease

Adenocarcinoma del colon

Metastatic site

Linfonodo sopraclaveare sinistro

Caratteristiche

Age

56 anni

Gender

Uomo

Ethnicity

Caucasico

Lovo-Luc | 305682

Morphology Simile all'epitelio**Growth properties** Aderente

Dati normativi

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

GMO Status GMO-S1: Questa linea cellulare contiene una cassetta reporter della luciferasi di lucciola (Luc2, ottimizzata a livello di codoni) integrata in modo stabile, introdotta tramite trasduzione lentivirale a replicazione incompetente. La popolazione cellulare policlonale risultante è stata mantenuta sotto selezione con puromicina (1–5 µg/mL). È richiesto il contenimento di classe S1. Questa classificazione è valida solo in Germania e potrebbe differire in altri paesi.

Dati biomolecolari

Antigen expression HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, gruppo sanguigno B, Luc2 (lucciola, ottimizzato a livello di codoni)**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1-2, 6PGD, A, ES-D, 1**Oncogenes** Myc +, myb +, ras +, fos +, p53 +, sis -, abl -, ros -, src -**Tumorigenic** Sì, in topi nudi**Reverse transcriptase** Negativo**Products** Antigene carcinoembrionale (CEA) 908 ng/106 cellule/10 giorni

Mutational profile Mutazione: p.Lys437Argfs*5, eterozigote; Mutazione: p.Arg1114Ter, eterozigote; Mutazione: p.Met1431fs*42, eterozigote; Mutazione: p.Arg2816Gln, eterozigote; Mutazione: p.Leu15Phefs*41, eterozigote; Mutazione: p.Arg505Cys, eterozigote; Mutazione: p.Gly13Asp, eterozigote; Mutazione: p.Ala292Val, eterozigote; Mutazione: p.Lys128Serfs*35, omozigote

Lovo-Luc | 305682

Manipolazione

Culture Medium	Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutamina, w: 2,0 mM Sodio piruvato, w: 2,5 g/L NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820608a)
-----------------------	--

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
--------------------	---

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

Doubling time	24-48 ore
----------------------	-----------

Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
---------------------	---

Split ratio	da 1 a 3
--------------------	----------

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

Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
----------------------	-------------------------------

Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo + 10% DMSO per ottenere un'adeguata vitalità post-scongelo.
----------------------	--

Lovo-Luc | 305682

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 200 x g per 5 minuti, scartando con cura il surnatante contenente il terreno di congelamento.
7. Seguire la procedura descritta in Recupero post-scongelo

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare