

Lovo-Luc | 305682

Bendra informacija

Description

„Lovo-Luc“ yra bioluminescencinis žmogaus kolorektalinės adenokarcinomos ląstelių linijos „LoVo“ darinys, genetiškai modifikuotas taip, kad stabiliai ekspresuotų ugnies skruzdės liuciferazės reporterinį geną. Pirminė LoVo ląstelių linija buvo išskirta iš 56 metų vyro, sergančio kolorektaliniu adenokarcinomu, metastazavusio kairiojo supraklavikulinio limfmazgio ir yra viena iš plačiausiai vėžio tyrimuose naudojamų kolorektalinio vėžio ląstelių linijų. „LoVo“ ląstelės pasižymi epitelio tipo morfologija ir joms būdingas mikrosatelitų nestabilumas (MSI), nepakankamas nesutapimų taisymas (dMMR) bei onkogenų, įskaitant „Myc“, „myb“, „ras“, „fos“ ir „p53“, ekspresija. Dėl šių savybių „LoVo“ yra tinkamas modelis, skirtas tirti nesutapimų taisymo trūkumo turinčio kolorektalinio vėžio biologiją ir terapinį atsaką, įskaitant jautrumą imunoterapijai.

Stabili liuciferazės integracija „Lovo-Luc“ ląstelėse leidžia atlikti jautrų, kiekybinį bioluminescencinį vaizdavimą (BLI) naviko apkrovos nustatymui ksenotransplantacijos modeliuose, naudojant imunokompromituotus šeimininkus. Luminescencinis signalas koreliuoja su gyvybingų naviko ląstelių skaičiumi, o tai sudaro sąlygas neinvaziniam naviko įsitvirtinimo, augimo kinetikos ir atsako į gydymą stebėjimui laikui bėgant. „Lovo-Luc“ yra ypač vertingas atliekant ikiklinikinius tyrimus, kuriuose vertinami imuninių kontrolės taškų inhibitoriai, chemoterapiniai vaistai ir tikslinės terapijos MMR deficito turinčio storosios žarnos vėžio kontekste, taip pat atliekant didelio našumo vaistų atranką ir storosios žarnos vėžio biologijos mechanizmų tyrimus.

„Lovo-Luc“ išlaiko įprastas tėvinės „LoVo“ linijos molekulinės savybes, įskaitant MSI fenotipą, onkogenų ekspresijos profilį ir karcinoembrioninio antigeno (CEA) gamybą. Liuciferazės reporteris žymiai padidina eksperimentų našumą ir leidžia realiuoju laiku farmakodinamiškai įvertinti gydymo veiksmingumą. Prieš naudojant šią liniją didelio masto ikiklinikiniuose tyrimuose, mokslininkai turėtų patikrinti liuciferazės aktyvumą, MMR būklę ir augimo kinetiką savo konkrečiomis eksperimentinėmis sąlygomis.

Organism Žmogus

Tissue Metastazių

Disease Storosios žarnos adenokarcinoma

Metastatic site Kairysis viršraktikaulinis limfmazgis

Charakteristikos

Age 56 metai

Gender Vyras

Ethnicity Kaukaziečių

Morphology Į epitelį panašus

Lovo-Luc | 305682

Growth properties

Priglundės

Reguliavimo duomenys

Citation

„Lovo-Luc“ (Cytion katalogo numeris 305682)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_4Y03

GMO Status

GMO-S1: Šioje ląstelių linijoje yra stabiliai integruota jonvabalių liuciferazės reporterinė kasetė (Luc2, kodonų atžvilgiu optimizuota), įterpta naudojant replikacijos nesugebančią lentivirusinę transdukciją. Gauta polikloninė ląstelių populiacija buvo išlaikyta atliekant selekciją puromicinu (1–5 µg/mL). Reikalaujamas S1 saugumo lygis. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Antigen expression

HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, B kraujo grupė, Luc2 (vabalas, kodonų optimizacija)

Isoenzymes

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

Oncogenes

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

Tumorigenic

Taip, su nuogomis pelėmis

Reverse transcriptase

Neigiamas

Products

Karcinoembrioninis antigenas (CEA) 908 ng/106 ląstelių/10 dienų

Mutational profile

Mutacija: p.Lys437Argfs*5, heterozigotinė; Mutacija: p.Arg1114Ter, heterozigotinė; Mutacija: p.Met1431fs*42, heterozigotinė; Mutacija: p.Arg2816Gln, heterozigotinė; Mutacija: p.Leu15Phefs*41, heterozigotinė; Mutacija: p.Arg505Cys, heterozigotinė; Mutacija: p.Gly13Asp, heterozigotinė; Mutacija: p.Ala292Val, heterozigotinė; Mutacija: p.Lys128Serfs*35, homozigotinė

Tvarkymas

Lovo-Luc | 305682

Culture Medium	Ham's F12K terpė, w: 2,0 mM L-Glutaminas, w: 2,0 mM natrio piruvatas, w: 2,5 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820608a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24–48 valandos
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Split ratio	1–3
Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo.

Lovo-Luc | 305682

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 200 x g greičiu 5 minutes, atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpe.
7. Atlikite procedūrą, aprašytą skyriuje "Atkūrimas po atšildymo"

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė