

Lovo-Luc | 305682

Vispārīga informācija

Description

LoVo-Luc ir cilvēka LoVo kolorektālās adenokarcinomas šūnu līnijas bioluminiscentis atvasinājums, kas ģenētiski modificēts, lai stabili ekspresētu ugunskurku luciferāzes reportergēnu. Sākotnējā LoVo šūnu līnija tika izveidota no 56 gadus veca vīrieša pacienta kolorektālās adenokarcinomas metastātiskā kreisā supraklavikulārā limfmezgla un ir viena no visplašāk izmantotajām kolorektālā vēža šūnu līnijām vēža pētniecībā. LoVo šūnas uzrāda epitēlija tipa morfoloģiju, un tām raksturīga mikrosatelītu nestabilitāte (MSI), nepilnīga nesakritības reparācija (dMMR) un onkogēnu, tostarp Myc, myb, ras, fos un p53, ekspresija. Šīs īpašības padara LoVo par atbilstošu modeli, lai pētītu kolorektālā vēža bioloģiju ar defektīvu nesakritības reparāciju un terapeitisko reakciju, tostarp jutību pret imūnterapiju.

Stabila luciferāzes integrācija LoVo-Luc šūnās ļauj veikt jutīgu, kvantitatīvu bioluminiscences attēlveidošanu (BLI) audzēja apjomam ksenotransplantātu modeļos, izmantojot imūnsistēmas novājinātus saņēmējus. Luminiscences signāls korelē ar dzīvotspējīgo audzēja šūnu skaitu, nodrošinot neinvazīvu audzēja ieaugšanas, augšanas kinētikas un ārstēšanas reakcijas garenvirziena novērošanu. LoVo-Luc ir īpaši vērtīgs pirmsklīniskajos pētījumos, kuros novērtē imūnkontrolepunktu inhibitorus, ķīmijterapijas līdzekļus un mērķtiecīgas terapijas saistībā ar MMR deficītu kolorektālajā vēzī, kā arī augstas caurlaidspējas zāļu skrīningam un kolorektālā vēža bioloģijas mehānismu izpētei.

LoVo-Luc saglabā vecāko LoVo līnijas iedibinātās molekulārās īpašības, tostarp tās MSI fenotipu, onkogēnu ekspresijas profilu un karcinoembrionālā antigēna (CEA) ražošanu. Luciferāzes reportera klātbūtne ievērojami palielina eksperimentālo caurlaidspēju un ļauj reāllaikā veikt farmakodinamisko ārstēšanas efektivitātes novērtējumu. Pirms izmantošanas plaša mēroga pirmsklīniskajos pētījumos pētniekiem ir jāpārbauda luciferāzes aktivitāte, MMR statuss un augšanas kinētika savos konkrētajos eksperimentālajos apstākļos.

Organism

Cilvēks

Tissue

Metastātisks

Disease

Resnās zarnas adenokarcinoma

Metastatic site

Kreisais virsklaiviskais limfmezgls

Raksturojums

Age

56 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Epitēlijveidīgs

Lovo-Luc | 305682

Growth properties	Adherent
--------------------------	----------

Normatīvie dati

Citation	Lovo-Luc (Cytion kataloga numurs 305682)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_4Y03
-----------------------------	-----------

GMO Status	GMO-S1: Šī šūnu līnija satur stabili integrētu ugunskrēsliņa luciferāzes reporterkāsešu (Luc2, kodonu optimizēta), kas ievadīta, izmantojot replikācijas nespējīgu lentivīrusa transdukciju. Iegūtā poliklonālā šūnu populācija tika uzturēta puromicīna selekcijas apstākļos (1–5 µg/ml). Ir nepieciešama S1 drošības klase. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.
-------------------	--

Biomolekulārie dati

Antigen expression	HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, asinsgrupa B, Luc2 (spoža muša, kodonu optimizēts)
---------------------------	---

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

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

Tumorigenic	Jā, kailām pelēm
--------------------	------------------

Reverse transcriptase	Negatīvs
------------------------------	----------

Products	Karcinoembrionālais antigēns (CEA) 908 ng/106 šūnas/10 dienas
-----------------	---

Mutational profile	Mutācija: p.Lys437Argfs*5, heterozigota; Mutācija: p.Arg1114Ter, heterozigota; Mutācija: p.Met1431fs*42, heterozigota; Mutācija: p.Arg2816Gln, heterozigota; Mutācija: p.Leu15Phefs*41, heterozigota; Mutācija: p.Arg505Cys, heterozigota; Mutācija: p.Gly13Asp, heterozigota; Mutācija: p.Ala292Val, heterozigota; Mutācija: p.Lys128Serfs*35, homozigota
---------------------------	--

Darbs ar

Lovo-Luc | 305682

Culture Medium	Hama F12K barotne, w: 2,0 mM L-glutamīns, w: 2,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,5 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820608a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24–48 stundas
Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Split ratio	no 1 līdz 3
Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

Lovo-Luc | 305682

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze