

Lovo-Luc | 305682

Algemene informatie

Description

LoVo-Luc is een bioluminescent derivaat van de menselijke LoVo-celijn voor colorectaal adenocarcinoom, dat genetisch is gemodificeerd om op stabiele wijze een vuurvlieg-luciferase-reportergen tot expressie te brengen. De oorspronkelijke LoVo-celijn is geïsoleerd uit een gemetastaseerde linker supraclaviculaire lymfeklier van een colorectaal adenocarcinoom bij een 56-jarige mannelijke patiënt en is een van de meest gebruikte colorectale kankercellijnen in kankeronderzoek. LoVo-cellen vertonen een epitheelachtige morfologie en worden gekenmerkt door microsatellietinstabiliteit (MSI), deficiënte mismatch-reparatie (dMMR) en de expressie van oncogenen, waaronder Myc, myb, ras, fos en p53. Deze kenmerken maken LoVo tot een relevant model voor het bestuderen van de biologie van colorectale kanker met deficiënte mismatch-reparatie en van therapeutische reacties, waaronder gevoeligheid voor immuuntherapie.

De stabiele integratie van luciferase in LoVo-Luc maakt gevoelige, kwantitatieve bioluminescentiebeeldvorming (BLI) van de tumorbelasting mogelijk in xenotransplantaatmodellen met immuungecompromiteerde gastheerorganismen. Het luminescentiesignaal correleert met het aantal levensvatbare tumorcellen, wat niet-invasieve longitudinale monitoring van de tumorengrafting, de groeikinetiek en de respons op de behandeling ondersteunt. LoVo-Luc is bijzonder waardevol voor preklinische studies ter evaluatie van immuuncheckpointremmers, chemotherapeutica en gerichte therapieën in de context van MMR-deficiënte colorectale kanker, evenals voor high-throughput-geneesmiddelen screening en mechanistisch onderzoek naar de biologie van colorectale kanker.

LoVo-Luc behoudt de gevestigde moleculaire kenmerken van de oorspronkelijke LoVo-lijn, waaronder het MSI-fenotype, het oncogene-expressieprofiel en de productie van carcino-embryonaal antigeen (CEA). De luciferase-reporter verhoogt de experimentele doorvoer aanzienlijk en maakt realtime farmacodynamische beoordeling van de effectiviteit van de behandeling mogelijk. Onderzoekers dienen de luciferase-activiteit, de MMR-status en de groeikinetiek onder hun specifieke experimentele omstandigheden te verifiëren alvorens deze lijn in grootschalige preklinische studies te gebruiken.

Organism

Mens

Tissue

Uitgezaaid

Disease

Colonadenocarcinoom

Metastatic site

Linker supraclaviculaire lymfeklier

Kenmerken

Age

56 jaar

Gender

Mannelijk

Ethnicity

Kaukasisch

Lovo-Luc | 305682

Morphology Epitheelachtig**Growth properties** Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation Lovo-Luc (Cytion-catalogusnummer 305682)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4Y03**GMO Status** GMO-S1: Deze cellijn bevat een stabiel geïntegreerde vuurvlieg-luciferase-reportercassette (Luc2, codon-geoptimaliseerd) die is ingebracht via replicatie-incompetente lentivirale transductie. De resulterende polyklonale celpopulatie werd in stand gehouden onder puromycineselectie (1–5 µg/mL). S1-beheersingsniveau is vereist. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Antigen expression HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, bloedgroep B, Luc2 (vuurvlieg, codon-geoptimaliseerd)**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1-2, 6PGD, A, ES-D, 1**Oncogenes** Myc +, myb +, ras +, fos +, p53 +, sis -, abl -, ros -, src -**Tumorigenic** Ja, in naakte muizen**Reverse transcriptase** Negatief**Products** Carcino-embryonaal antigeen (CEA) 908 ng/106 cellen/10 dagen**Mutational profile** Mutatie: p.Lys437Argfs*5, heterozygoot; Mutatie: p.Arg1114Ter, heterozygoot; Mutatie: p.Met1431fs*42, heterozygoot; Mutatie: p.Arg2816Gln, heterozygoot; Mutatie: p.Leu15Phefs*41, heterozygoot; Mutatie: p.Arg505Cys, heterozygoot; Mutatie: p.Gly13Asp, heterozygoot; Mutatie: p.Ala292Val, heterozygoot; Mutatie: p.Lys128Serfs*35, homozygoot

Omgaan met

Lovo-Luc | 305682

Culture Medium	Ham's F12K-medium, w: 2,0 mM L-glutamine, w: 2,0 mM natriumpyruvaat, w: 2,5 g/L NaHCO ₃ (Cytion-artikelfnummer 820608a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24-48 uur
Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
Split ratio	1 tot en met 3
Seeding density	1-3*10 ⁴ /cm ²
Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien.

Lovo-Luc | 305682

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open de gedesinfecteerde flacon voorzichtig en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 5 minuten bij 200 x g en gooi het supernatant met vriesmedium voorzichtig weg.
7. Volg de procedure beschreven onder Herstel na ontdooien

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse