

Lovo-Luc | 305682

Generell informasjon

Description

LoVo-Luc er et bioluminescerende derivat av den humane LoVo-cellelinjen for kolorektalt adenokarsinom, som er genetisk modifisert til å uttrykke et reporter-gen for ildflue-luciferase på en stabil måte. Den opprinnelige LoVo-cellelinjen ble etablert fra en metastatisk venstre supraklavikulær lymfeknute fra et kolorektalt adenokarsinom hos en 56 år gammel mannlig pasient, og er en av de mest brukte kolorektale kreftcellelinjene i kreftforskning. LoVo-celler har en epitelignende morfologi og er preget av mikrosatellittinstabilitet (MSI), mangelfull mismatch-reparasjon (dMMR) og uttrykk av onkogener, inkludert Myc, myb, ras, fos og p53. Disse egenskapene gjør LoVo til en relevant modell for å studere biologien til kolorektal kreft med mangelfull mismatch-reparasjon og terapeutiske responser, inkludert følsomhet for immunterapi.

Den stabile luciferase-integrasjonen i LoVo-Luc muliggjør følsom, kvantitativ bioluminescensavbildning (BLI) av tumorbyrden i xenotransplantasjonsmodeller med immunsvekkede verter. Det luminescerende signalet korrelerer med antall levedyktige tumorceller, noe som muliggjør ikke-invasiv, longitudinell overvåking av tumorinnpodning, vekstkinetikk og behandlingsrespons. LoVo-Luc er særlig verdifullt for prekliniske studier som evaluerer immunchekpoint-hemmere, kjemoterapeutiske midler og målrettede terapier i sammenheng med MMR-mangelfull tykktarmskreft, samt for høykapasitets screening av legemidler og mekanistiske undersøkelser av tykktarmskreftbiologi.

LoVo-Luc beholder de etablerte molekyllære egenskapene til den opprinnelige LoVo-linjen, inkludert MSI-fenotypen, onkogenuttrykkprofilen og produksjonen av karcinoembryonalt antigen (CEA). Luciferase-reporteren forbedrer den eksperimentelle gjennomstrømningen betydelig og muliggjør farmakodynamisk vurdering av behandlingseffekten i sanntid. Forskere bør verifisere luciferaseaktivitet, MMR-status og vekstkinetikk under sine spesifikke eksperimentelle forhold før bruk i storskala prekliniske studier.

Organism

Menneskelig

Tissue

Metastatisk

Disease

Adenokarsinom i tykktarmen

Metastatic site

Venstre supraklavikulære lymfeknute

Kjennetegn

Age

56 år

Gender

Mann

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Epitel-lignende

Lovo-Luc | 305682

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

Lovo-Luc (Cytion-katalognummer 305682)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_4Y03

GMO Status

GMO-S1: Denne cellelinjen inneholder en stabilt integrert reporter-kassett med ildflue-luciferase (Luc2, kodonoptimalisert) som er innført via replikasjonsinkompetent lentiviral transduksjon. Den resulterende polyklonale cellepopulasjonen ble opprettholdt under puromycin-seleksjon (1–5 µg/mL). S1-sikkerhetsnivå er påkrevd. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Antigen expression

HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, blodtype B, Luc2 (ildflue, kodonoptimalisert)

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, i nakne mus

Reverse transcriptase

Negativ

Products

Karsinoembryonalt antigen (CEA) 908 ng/106 celler/10 dager

Mutational profile

Mutasjon: p.Lys437Argfs*5, heterozygot; Mutasjon: p.Arg1114Ter, heterozygot; Mutasjon: p.Met1431fs*42, heterozygot; Mutasjon: p.Arg2816Gln, heterozygot; Mutasjon: p.Leu15Phefs*41, heterozygot; Mutasjon: p.Arg505Cys, heterozygot; Mutasjon: p.Gly13Asp, heterozygot; Mutasjon: p.Ala292Val, heterozygot; Mutasjon: p.Lys128Serfs*35, homozygot

Håndtering

Lovo-Luc | 305682

Culture Medium	Ham's F12K Medium, m: 2,0 mM L-Glutamin, m: 2,0 mM Natriumpyruvat, m: 2,5 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820608a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24–48 timer
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3–5 ml PBS for T25-kolber og 5–10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1–2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8–10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	1 til 3
Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium + 10 % DMSO for å sikre tilstrekkelig levedyktighet etter optining.

Lovo-Luc | 305682

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $200 \times g$ i 5 minutter, og kast supernatanten som inneholder frysemedium, forsiktig.
7. Følg prosedyren som er beskrevet under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopreserverte celler linjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196°C . Lagring ved -80°C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse