

Lovo-Luc | 305682

Informacje ogólne

Description

LoVo-Luc to bioluminescencyjna odmiana ludzkiej linii komórkowej LoVo pochodzącej z gruczolaka jelita grubego, zmodyfikowana genetycznie w celu stabilnej ekspresji genu reporterowego lucyferazy świetlika. Pierwotna linia komórkowa LoVo została wyizolowana z przerzutowego lewego węzła chłonnego nadobojczykowego u 56-letniego pacjenta z gruczolakorakiem jelita grubego i jest jedną z najczęściej stosowanych linii komórkowych raka jelita grubego w badaniach nad rakiem. Komórki LoVo wykazują morfologię podobną do komórek nabłonkowych i charakteryzują się niestabilnością mikrosatelitarową (MSI), niedoborem naprawy niedopasowań (dMMR) oraz ekspresją onkogenów, w tym Myc, myb, ras, fos i p53. Cechy te sprawiają, że LoVo stanowi odpowiedni model do badania biologii raka jelita grubego z niedoborem naprawy niedopasowań oraz odpowiedzi na leczenie, w tym wrażliwości na immunoterapię.

Stabilna integracja lucyferazy w linii LoVo-Luc umożliwia czułe, ilościowe obrazowanie bioluminescencyjne (BLI) obciążenia nowotworowego w modelach przeszczepów heterogenicznych z wykorzystaniem gospodarzy z obniżoną odpornością. Sygnał luminescencyjny koreluje z liczbą żywych komórek nowotworowych, co pozwala na nieinwazyjne monitorowanie w czasie przebiegu wszczepienia nowotworu, kinetyki wzrostu oraz odpowiedzi na leczenie. Linia LoVo-Luc jest szczególnie cenna w badaniach przedklinicznych oceniających inhibitory punktów kontrolnych układu odpornościowego, środki chemioterapeutyczne oraz terapie celowane w kontekście raka jelita grubego z niedoborem MMR, a także w wysokoprzepustowym przesiewaniu leków i badaniach mechanistycznych dotyczących biologii raka jelita grubego.

LoVo-Luc zachowuje ustalone cechy molekularne macierzystej linii LoVo, w tym fenotyp MSI, profil ekspresji onkogenów oraz produkcję antygenu rakowo-płodowego (CEA). Reporter lucyferazy znacznie zwiększa wydajność eksperymentalną i umożliwia farmakodynamiczną ocenę skuteczności leczenia w czasie rzeczywistym. Przed zastosowaniem w badaniach przedklinicznych na dużą skalę naukowcy powinni zweryfikować aktywność lucyferazy, status MMR oraz kinetykę wzrostu w swoich konkretnych warunkach eksperymentalnych.

Organism Człowiek**Tissue** Przerzuty**Disease** Gruczolakorak okrężnicy**Metastatic site** Lewy nadobojczykowy węzeł chłonny

Charakterystyka

Age 56 lat**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Kaukaski

Lovo-Luc | 305682

Morphology Podobny do nabłonka**Growth properties** Adherent

Dane regulacyjne

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

GMO Status GMO-S1: Ta linia komórkowa zawiera stabilnie zintegrowaną kasetę reporterową z lucyferazą świetlika (Luc2, zoptymalizowaną pod kątem kodonów), wprowadzoną za pomocą transdukcji lentiwirusowej bez zdolności do replikacji. Powstałą populację komórek poliklonalnych utrzymywano pod selekcją puromycyną (1–5 µg/ml). Wymagany jest poziom bezpieczeństwa S1. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Antigen expression HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, grupa krwi B, Luc2 (świećlik, zoptymalizowany pod kątem kodonów)**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1-2, 6PGD, A, ES-D, 1**Oncogenes** Myc +, myb +, ras +, fos +, p53 +, sis -, abl -, ros -, src -**Tumorigenic** Tak, u nagich myszy**Reverse transcriptase** Negatywny**Products** Antygen rakowo-płodowy (CEA) 908 ng/106 komórek/10 dni

Mutational profile Mutacja: p.Lys437Argfs*5, heterozygotyczna; Mutacja: p.Arg1114Ter, heterozygotyczna; Mutacja: p.Met1431fs*42, heterozygotyczna; Mutacja: p.Arg2816Gln, heterozygotyczna; Mutacja: p.Leu15Phefs*41, heterozygotyczna; Mutacja: p.Arg505Cys, heterozygotyczna; Mutacja: p.Gly13Asp, heterozygotyczna; Mutacja: p.Ala292Val, heterozygotyczna; Mutacja: p.Lys128Serfs*35, homozygotyczna

Lovo-Luc | 305682

Obsługa

Culture Medium	Pożywka Ham's F12K, w: 2,0 mM L-glutamina, w: 2,0 mM pirogronian sodu, w: 2,5 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820608a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24–48 godzin
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	od 1 do 3
Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

Lovo-Luc | 305682

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $200 \times g$ przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania.
7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna