

Lovo-Luc | 305682

Informações gerais

Description

A LoVo-Luc é um derivado bioluminescente da linha celular humana LoVo de adenocarcinoma colorretal, modificada geneticamente para expressar de forma estável um gene repórter de luciferase de pirilampo. A linha celular parental LoVo foi estabelecida a partir de um linfonodo supraclavicular esquerdo metastático de um adenocarcinoma colorretal num doente do sexo masculino de 56 anos e é uma das linhas celulares de cancro colorretal mais utilizadas na investigação oncológica. As células LoVo apresentam uma morfologia de tipo epitelial e caracterizam-se pela instabilidade de microssatélites (MSI), reparação de desajustes deficiente (dMMR) e expressão de oncogenes, incluindo Myc, myb, ras, fos e p53. Estas características tornam a LoVo um modelo relevante para o estudo da biologia do cancro colorretal com deficiência na reparação de desajustes e das respostas terapêuticas, incluindo a sensibilidade à imunoterapia.

A integração estável da luciferase na LoVo-Luc permite a obtenção de imagens por bioluminescência (BLI) sensíveis e quantitativas da carga tumoral em modelos de xenoenxertos utilizando hospedeiros imunocomprometidos. O sinal luminescente está correlacionado com o número de células tumorais viáveis, permitindo a monitorização longitudinal não invasiva do enxerto tumoral, da cinética de crescimento e da resposta ao tratamento. O LoVo-Luc é particularmente valioso para estudos pré-clínicos que avaliam inibidores de pontos de controlo imunitários, agentes quimioterapêuticos e terapias direcionadas no contexto do cancro colorretal com deficiência de MMR, bem como para o rastreio de fármacos de alto rendimento e investigações mecanistas da biologia do cancro colorretal.

O LoVo-Luc mantém as características moleculares estabelecidas da linha parental LoVo, incluindo o seu fenótipo MSI, o perfil de expressão de oncogenes e a produção do antígeno carcinoembrionário (CEA). O repórter de luciferase aumenta substancialmente o rendimento experimental e permite a avaliação farmacodinâmica em tempo real da eficácia do tratamento. Os investigadores devem verificar a atividade da luciferase, o estado do MMR e a cinética de crescimento nas suas condições experimentais específicas antes da utilização em estudos pré-clínicos em grande escala.

Organism

Humano

Tissue

Metastático

Disease

Adenocarcinoma do cólon

Metastatic site

Linfonodo supraclavicular esquerdo

Caraterísticas

Age

56 anos

Gender

Masculino

Ethnicity

Caucasiano

Lovo-Luc | 305682

Morphology De tipo epitelial**Growth properties** Aderente

Dados regulamentares

Citation Lovo-Luc (número de catálogo da Cytion 305682)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4Y03

GMO Status GMO-S1: Esta linha celular contém uma cassete repórter de luciferase de pirilampo (Luc2, com códons otimizados) integrada de forma estável, introduzida através de transdução lentiviral incompetente para replicação. A população celular policlonal resultante foi mantida sob seleção com puromicina (1–5 µg/mL). É necessário o nível de contenção S1. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Antigen expression HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, grupo sanguíneo B, Luc2 (pirilampo, com códons otimizados)**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1-2, 6PGD, A, ES-D, 1**Oncogenes** Myc +, myb +, ras +, fos +, p53 +, sis -, abl -, ros -, src -**Tumorigenic** Sim, em ratinhos nus**Reverse transcriptase** Negativo**Products** Antígeno carcinoembrionário (CEA) 908 ng/106 células/10 dias

Mutational profile Mutação: p.Lys437Argfs*5, heterozigótica; Mutação: p.Arg1114Ter, heterozigótica; Mutação: p.Met1431fs*42, heterozigótica; Mutação: p.Arg2816Gln, heterozigótica; Mutação: p.Leu15Phefs*41, heterozigótica; Mutação: p.Arg505Cys, heterozigótica; Mutação: p.Gly13Asp, heterozigótica; Mutação: p.Ala292Val, heterozigótica; Mutação: p.Lys128Serfs*35, homozigótica

Lovo-Luc | 305682

Manuseamento

Culture Medium	Ham's F12K Medium, com: 2,0 mM L-Glutamina, com: 2,0 mM Piruvato de sódio, com: 2,5 g/L NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820608a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 a 48 horas
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Split ratio	1 a 3
Seeding density	$1-3 \times 10^4 / \text{cm}^2$
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo + 10% de DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada.

Lovo-Luc | 305682

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $200 \times g$ durante 5 minutos e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação.
7. Seguir o procedimento descrito em Recuperação pós-descongelamento

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196°C . O armazenamento a -80°C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular