

Lovo-Luc | 305682

Informații generale

Description

LoVo-Luc este un derivat bioluminescent al liniei celulare umane LoVo de adenocarcinom colorectal, modificată genetic pentru a exprima în mod stabil o genă reporter de tip luciferază de licurici. Linia celulară parentală LoVo a fost izolată dintr-un ganglion limfatic supraclavicular stâng metastatic provenit de la un adenocarcinom colorectal la un pacient de sex masculin în vârstă de 56 de ani și este una dintre cele mai utilizate linii celulare de cancer colorectal în cercetarea oncologică. Celulele LoVo prezintă o morfologie de tip epitelial și se caracterizează prin instabilitate microsatelitară (MSI), deficiență de reparare a nepotrivirilor (dMMR) și expresia unor oncogene, inclusiv Myc, myb, ras, fos și p53. Aceste caracteristici fac din LoVo un model relevant pentru studierea biologiei cancerului colorectal cu deficiență de reparare a nepotrivirilor și a răspunsurilor terapeutice, inclusiv a sensibilității la imunoterapie.

Integrarea stabilă a luciferazei în LoVo-Luc permite imagistica prin bioluminescență (BLI) sensibilă și cantitativă a încărcăturii tumorale în modele de xenotransplant utilizând gazde imunocompromise. Semnalul luminescent se corelează cu numărul de celule tumorale viabile, facilitând monitorizarea longitudinală neinvazivă a grefării tumorale, a cineticii de creștere și a răspunsului la tratament. LoVo-Luc este deosebit de valoros pentru studiile preclinice care evaluează inhibitorii punctelor de control imunitar, agenții chimioterapeutici și terapiile țintite în contextul cancerului colorectal cu deficit de MMR, precum și pentru screeningul de mare capacitate al medicamentelor și investigațiile mecaniciste privind biologia cancerului colorectal.

LoVo-Luc păstrează caracteristicile moleculare stabilite ale liniei parentale LoVo, inclusiv fenotipul MSI, profilul de expresie al oncogenelor și producția de antigen carcinoembrionar (CEA). Reporterul luciferază îmbunătățește substanțial randamentul experimental și permite evaluarea farmacodinamică în timp real a eficacității tratamentului. Cercetătorii ar trebui să verifice activitatea luciferazei, statutul MMR și cinetica de creștere în condițiile lor experimentale specifice înainte de utilizarea în studii preclinice la scară largă.

Organism

Om

Tissue

Metastatic

Disease

Adenocarcinom de colon

Metastatic site

Nod limfatic supraclavicular stâng

Caracteristici

Age

56 de ani

Gender

Masculin

Ethnicity

Caucasian

Morphology

De tip epitelial

Lovo-Luc | 305682

Growth properties

Aderent

Date de reglementare**Citation**

Lovo-Luc (număr de catalog Cytion 305682)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_4Y03

GMO Status

GMO-S1: Această linie celulară conține o casetă reporter de luciferază de licurici (Luc2, optimizată la nivel de codon) integrată stabil, introdusă prin transducție lentivirală incompetentă din punct de vedere al replicării. Populația celulară policlonală rezultată a fost menținută sub selecție cu puromicină (1–5 µg/mL). Este necesară izolarea de tip S1. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

Date biomoleculare**Antigen expression**

HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, grupa sanguină B, Luc2 (licurici, optimizat la nivel de codon)

Isoenzymes

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

Oncogenes

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

Tumorigenic

Da, la șoareci nude

Reverse transcriptase

Negativ

Products

Antigen carcinoembrionar (CEA) 908 ng/106 celule/10 zile

Mutational profile

Mutație: p.Lys437Argfs*5, heterozigotă; Mutație: p.Arg1114Ter, heterozigotă; Mutație: p.Met1431fs*42, heterozigotă; Mutație: p.Arg2816Gln, heterozigotă; Mutație: p.Leu15Phefs*41, heterozigotă; Mutație: p.Arg505Cys, heterozigotă; Mutație: p.Gly13Asp, heterozigotă; Mutație: p.Ala292Val, heterozigotă; Mutație: p.Lys128Serfs*35, homozigotă

Manipulare

Lovo-Luc | 305682

Culture Medium	Mediu Ham's F12K, w: 2,0 mM L-Glutamină, w: 2,0 mM piruvat de sodiu, w: 2,5 g/L NaHCO ₃ (număr articol Cytion 820608a)
-----------------------	---

Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
--------------------	--------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	24–48 de ore
----------------------	--------------

Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
---------------------	--

Split ratio	1–3
--------------------	-----

Seeding density	1-3*10 ⁴ /cm ²
------------------------	--------------------------------------

Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână
----------------------	---------------------------------

Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare.
----------------------	---

Lovo-Luc | 305682

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 200 x g timp de 5 minute, se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare.
7. Se urmează procedura descrisă la secțiunea Recuperare după decongelare

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară