

Lovo-Luc | 305682

Allmän information

Description

LoVo-Luc är ett bioluminescerande derivat av den humana LoVo-cellinjen för kolorektalt adenokarcinom, som har modifierats för att stabilt uttrycka ett reporter-gen baserat på eldfluga-luciferas. Den ursprungliga LoVo-cellinjen etablerades från en metastaserad vänster supraklavikulär lymfkörtel hos en 56-årig manlig patient med kolorektalt adenokarcinom och är en av de mest använda kolorektala cancercellinjerna inom cancerforskningen. LoVo-celler uppvisar epitelial liknande morfologi och kännetecknas av mikrosatellitinstabilitet (MSI), bristfällig mismatch-reparation (dMMR) samt uttryck av onkogener, inklusive Myc, myb, ras, fos och p53. Dessa egenskaper gör LoVo till en relevant modell för att studera biologin hos kolorektalcancer med bristande mismatch-reparation samt terapeutiska svar, inklusive känslighet för immunterapi.

Den stabila integrationen av luciferas i LoVo-Luc möjliggör känslig, kvantitativ bioluminescensavbildning (BLI) av tumörbördan i xenotransplantatmodeller med immunförsvarsvaga värdar. Den luminescerande signalen korrelerar med antalet livsdugliga tumörceller, vilket underlättar icke-invasiv longitudinell övervakning av tumörens inplantering, tillväxtkinetik och behandlingssvar. LoVo-Luc är särskilt värdefullt för prekliniska studier som utvärderar immunchekpoint-hämmare, kemoterapeutiska medel och riktade terapier i samband med MMR-bristande kolorektal cancer, liksom för läkemedelsscreening med hög genomströmning och mekanistiska undersökningar av kolorektal cancerbiologi.

LoVo-Luc behåller de etablerade molekyllära egenskaperna hos den ursprungliga LoVo-linjen, inklusive dess MSI-fenotyp, onkogenuttrycksprofil och produktion av karcinoembryonalt antigen (CEA). Luciferasreportern förbättrar avsevärt den experimentella genomströmningen och möjliggör farmakodynamisk bedömning av behandlingseffekten i realtid. Forskare bör verifiera luciferasaktiviteten, MMR-statusen och tillväxtkinetiken under sina specifika försöksförhållanden innan den används i storskaliga prekliniska studier.

Organism

Människan

Tissue

Metastaserande

Disease

Adenocarcinom i tjocktarmen

Metastatic site

Vänster supraklavikulär lymfkörtel

Egenskaper

Age

56 år

Gender

Man

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Epitelliknande

Lovo-Luc | 305682

Growth properties

Följsam

Lagstadgade uppgifter**Citation**

Lovo-Luc (Cytion-katalognummer 305682)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_4Y03

GMO Status

GMO-S1: Denna cellinje innehåller en stabilt integrerad reporter-kasset med eldfluga-luciferas (Luc2, kodonoptimerad) som införts via replikationsinkompetent lentiviral transduktion. Den resulterande polyklonala cellpopulationen odlades under puromycinselektion (1–5 µg/mL). S1-säkerhetsklass krävs. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt i andra länder.

Biomolekylära data**Antigen expression**

HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, blodgrupp B, Luc2 (eldfluga, kodonoptimerad)

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 nakna möss

Reverse transcriptase

Negativt

Products

Carcinoembryonalt antigen (CEA) 908 ng/106 celler/10 dagar

Mutational profile

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

Hantering

Lovo-Luc | 305682

Culture Medium	Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,5 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820608a)
-----------------------	---

Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
--------------------	--------------------------------

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

Doubling time	24–48 timmar
----------------------	--------------

Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
---------------------	---

Split ratio	1 till 3
--------------------	----------

Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
------------------------	-------------------------------

Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka
----------------------	---------------------------

Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining.
----------------------	--

Lovo-Luc | 305682

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150°C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37°C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödesbänk och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $200 \times g$ i 5 minuter och kassera försiktigt supernatanten som innehåller frysmedium.
7. Följ den procedur som beskrivs under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78°C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196°C . Förvaring vid -80°C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys