

Lovo-Luc | 305682

Všeobecné informácie

Description

LoVo-Luc je bioluminiscenčný derivát ľudskej buneckej línie LoVo pochádzajúcej z kolorektálneho adenokarcinómu, ktorá bola geneticky upravená tak, aby stabilne exprimovala reportérový gén luciferázy svätojánskej mušky. Pôvodná bunková línia LoVo bola izolovaná z metastatického ľavého supraklavikulárneho lymfatického uzla kolorektálneho adenokarcinómu u 56-ročného mužského pacienta a patrí medzi najčastejšie používané bunkové línie kolorektálneho karcinómu vo výskume rakoviny. Bunky LoVo vykazujú epiteliálnu morfológiu a vyznačujú sa mikrosatelitnou nestabilitou (MSI), deficitom opravy nesúlady (dMMR) a expresiou onkogénov vrátane Myc, myb, ras, fos a p53. Vďaka týmto vlastnostiam je LoVo relevantným modelom na štúdium biológie kolorektálneho karcinómu s deficitom opravy nesúlady a terapeutických odpovedí, vrátane citlivosti na imunoterapiu.

Stabilná integrácia luciferázy v LoVo-Luc umožňuje citlivé, kvantitatívne bioluminiscenčné zobrazovanie (BLI) nádorovej záťaže v modeloch s xenotransplantátmi s využitím imunokompromitovaných hostiteľov. Luminiscenčný signál koreluje s počtom životaschopných nádorových buniek, čo umožňuje neinvazívne longitudinálne sledovanie prihojenia nádoru, kinetiky rastu a odpovede na liečbu. LoVo-Luc je obzvlášť cenný pre predklinické štúdie hodnotiace inhibitory imunitných kontrolných bodov, chemoterapeutické látky a ciele terapie v kontexte kolorektálneho karcinómu s deficitom MMR, ako aj pre vysokokapacitné skriningy liekov a mechanistické skúmanie biológie kolorektálneho karcinómu.

LoVo-Luc si zachováva etablované molekulárne charakteristiky rodičovskej línie LoVo, vrátane jej fenotypu MSI, profilu expzie onkogénov a produkcie karcinoembryonálneho antigénu (CEA). Reportér luciferázy podstatne zvyšuje experimentálnu priepustnosť a umožňuje farmakodynamické hodnotenie účinnosti liečby v reálnom čase. Výskumníci by mali pred použitím v rozsiahlych predklinických štúdiách overiť aktivitu luciferázy, stav MMR a kinetiku rastu za svojich špecifických experimentálnych podmienok.

Organism

Ľudské

Tissue

Metastatické

Disease

Adenokarcinóm hrubého čreva

Metastatic site

Ľavá supraklavikulárna lymfatická uzlina

Charakteristika

Age

56 rokov

Gender

Muži

Ethnicity

Kaukazský

Morphology

Epitelu podobné

Lovo-Luc | 305682

Growth properties

Adherent

Regulačné údaje

Citation

Lovo-Luc (katalógové číslo Cytion 305682)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_4Y03

GMO Status

GMO-S1: Táto bunková línia obsahuje stabilne integrovanú reportérovú kazetu s luciferázou svätojánskej mušky (Luc2, s optimalizovanými kodónmi), ktorá bola zavedená prostredníctvom lentivírusovej transdukcie bez schopnosti replikácie. Výsledná polyklonálna bunková populácia bola udržiavaná pod selekciou puromycínom (1–5 µg/ml). Je vyžadované bezpečnostné opatrenie triedy S1. Táto klasifikácia platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje

Antigen expression

HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, krvná skupina B, Luc2 (svetluška, s optimalizovanými kodónmi)

Isoenzymes

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

Oncogenes

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

Tumorigenic

Áno, na nahých myšiach

Reverse transcriptase

Negatívne

Products

Karcinoembryonálny antigén (CEA) 908 ng/106 buniek/10 dní

Mutational profile

Mutácia: p.Lys437Argfs*5, heterozygotná; Mutácia: p.Arg1114Ter, heterozygotná; Mutácia: p.Met1431fs*42, heterozygotná; Mutácia: p.Arg2816Gln, heterozygotná; Mutácia: p.Leu15Phefs*41, heterozygotná; Mutácia: p.Arg505Cys, heterozygotná; Mutácia: p.Gly13Asp, heterozygotná; Mutácia: p.Ala292Val, heterozygotná; Mutácia: p.Lys128Serfs*35, homozygotná

Spracovanie

Lovo-Luc | 305682

Culture Medium	Hamovo médium F12K, w: 2,0 mM L-glutamín, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,5 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820608a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24–48 hodín
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Split ratio	1 až 3
Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
Freeze medium	Ako médium na kryokonzerváciu používame kompletné rastové médium + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení.

Lovo-Luc | 305682

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 200 x g počas 5 minút, supernatant obsahujúci zmrazovacie médium opatrne zlikvidujte.
7. Postupujte podľa postupu opísaného v časti Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza