

Lovo-Luc | 305682

Splošne informacije

Description

LoVo-Luc je bioluminiscenčni derivat človeške celične linije LoVo, ki izvira iz kolorektalnega adenokarcinoma, in je bil genetsko spremenjen tako, da stabilno izraža reporterni gen luciferaze svetlikavca. Izvorna celična linija LoVo je bila vzpostavljena iz metastatskega levega supraklavikularnega limfnega vozla kolorektalnega adenokarcinoma pri 56-letnem moškem pacientu in je ena izmed najpogostejše uporabljenih celičnih linij kolorektalnega raka v raziskavah raka. Celice LoVo imajo epitelijsko podobno morfologijo in so značilne po nestabilnosti mikrosatelitov (MSI), pomanjkljivem popravljanju neskladij (dMMR) ter izražanju onkogenov, vključno z Myc, myb, ras, fos in p53. Zaradi teh značilnosti je LoVo primeren model za preučevanje biologije kolorektalnega raka z okvaro popravljanja neskladij ter terapevtskih odzivov, vključno z občutljivostjo na imunoterapijo.

Stabilna integracija luciferaze v celicah LoVo-Luc omogoča občutljivo, kvantitativno bioluminiscenčno slikanje (BLI) tumorske obremenitve v modelih ksenotransplantatov z imunsko oslABLjenimi gostitelji. Luminiscenčni signal je v korelaciji s številom živih tumorskih celic, kar omogoča neinvazivno longitudinalno spremljanje prijemanja tumorja, kinetične rasti in odziva na zdravljenje. LoVo-Luc je še posebej dragocen za predklinične študije, ki ocenjujejo zaviralce imunskih kontrolnih točk, kemoterapevtska sredstva in ciljno usmerjene terapije v okviru kolorektalnega raka z okvaro MMR, pa tudi za visoko zmogljivo presejanje zdravil in mehanistične raziskave biologije kolorektalnega raka.

LoVo-Luc ohranja uveljavljene molekularne značilnosti izvorne linije LoVo, vključno z njenim fenotipom MSI, profilom ekspresije onkogenov in proizvodnjo karcinoembrionalnega antigena (CEA). Reporterna luciferaza bistveno poveča eksperimentalno zmogljivost in omogoča farmakodinamično oceno učinkovitosti zdravljenja v realnem času. Raziskovalci morajo pred uporabo v obsežnih predkliničnih študijah preveriti aktivnost luciferaze, status MMR in kinetično rast v svojih specifičnih eksperimentalnih pogojih.

Organism

Človek

Tissue

Metastatski

Disease

Adenokarcinom debelega črevesa

Metastatic site

Leva nadlaktna bezgavka

Značilnosti

Age

56 let

Gender

Moški

Ethnicity

Kavkaški

Morphology

Epitelijam podobni

Lovo-Luc | 305682

Growth properties

Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation

Lovo-Luc (katalogska številka Cytion 305682)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_4Y03

GMO Status

GMO-S1: Ta celična linija vsebuje stabilno vgrajeno poročevalsko kaseto luciferaze svetlečega črviča (Luc2, kodonsko optimizirano), ki je bila vnesena z replikacijsko nesposobno lentiviralno transdukcijo. Nastala poliklonalna celična populacija je bila vzdrževana pod selekcijo s puromicinom (1–5 µg/mL). Zahteva se varnostni razred S1. Ta klasifikacija velja le v Nemčiji in se drugod lahko razlikuje.

Biomolekularni podatki

Antigen expression

HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, krvna skupina B, Luc2 (svetlobna mušica, kodonsko optimizirano)

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, na golih miših

Reverse transcriptase

Negativni

Products

Karcinoembrionalni antigen (CEA) 908 ng/106 celic/10 dni

Mutational profile

Mutacija: p.Lys437Argfs*5, heterozigotna; Mutacija: p.Arg1114Ter, heterozigotna; Mutacija: p.Met1431fs*42, heterozigotna; Mutacija: p.Arg2816Gln, heterozigotna; Mutacija: p.Leu15Phefs*41, heterozigotna; Mutacija: p.Arg505Cys, heterozigotna; Mutacija: p.Gly13Asp, heterozigotna; Mutacija: p.Ala292Val, heterozigotna; Mutacija: p.Lys128Serfs*35, homozigotna

Ravnanje s spletno stranjo

Lovo-Luc | 305682

Culture Medium	Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-glutamin, w: 2,0 mM natrijev piruvat, w: 2,5 g/L NaHCO ₃ (številka izdelka Cytion 820608a)
-----------------------	--

Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
--------------------	------------------------------

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

Doubling time	24–48 ur
----------------------	----------

Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
---------------------	--

Split ratio	1 do 3
--------------------	--------

Seeding density	1–3 × 10 ⁴ /cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	2 do 3-krat na teden
----------------------	----------------------

Freeze medium	Kot gojišče za krioprezervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi.
----------------------	---

Lovo-Luc | 305682

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $200 \times g$ 5 minut, supernatant, ki vsebuje gojišče za zamrzovanje, previdno zavržite.
7. Izvedite postopek, opisan v poglavju Obnova po odmrzovanju

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza