

Lovo-Luc | 305682

Genel bilgi

Description

LoVo-Luc, insan LoVo kolorektal adenokarsinom hücre hattının biyoluminesan bir türevidir ve ateşböceği lusiferaz raportör genini istikrarlı bir şekilde eksprese edecek şekilde tasarlanmıştır. Ana LoVo hücre hattı, 56 yaşındaki bir erkek hastada kolorektal adenokarsinomun metastaz yapmış sol supraklaviküler lenf düğümünden elde edilmiştir ve kanser araştırmalarında en yaygın olarak kullanılan kolorektal kanser hücre hatlarından biridir. LoVo hücreleri epitel benzeri bir morfoloji sergiler ve mikrosatellit instabilitesi (MSI), yetersiz mismatch onarımı (dMMR) ve Myc, myb, ras, fos ve p53 dahil olmak üzere onkogenlerin ekspresyonu ile karakterize edilir. Bu özellikler, LoVo'yu, eşleşme onarım eksikliği olan kolorektal kanser biyolojisini ve immünoterapiye duyarlılık dahil olmak üzere terapötik yanıtları incelemek için uygun bir model haline getirir.

LoVo-Luc'taki stabil lusiferaz entegrasyonu, bağışıklık sistemi baskılanmış konakçılar kullanılarak yapılan ksenograft modellerinde tümör yükünün hassas ve kantitatif biyoluminesans görüntülemesini (BLI) mümkün kılar. Lüminesan sinyal, canlı tümör hücre sayısı ile korelasyon gösterir ve bu da tümörün greftlenmesi, büyüme kinetiği ve tedaviye yanıtın noninvaziv uzunlamasına izlenmesini destekler. LoVo-Luc, MMR eksikliği olan kolorektal kanser bağlamında immün kontrol noktası inhibitörlerini, kemoterapötik ajanları ve hedefe yönelik tedavileri değerlendiren prelinik çalışmaların yanı sıra, yüksek verimli ilaç taraması ve kolorektal kanser biyolojisinin mekanistik araştırmaları için özellikle değerlidir.

LoVo-Luc, MSI fenotipi, onkogen ekspresyon profili ve karsinoembriyonik antijen (CEA) üretimi dahil olmak üzere, ana LoVo hattının yerleşik moleküler özelliklerini korur. Lüseraz raportörü, deneysel verimi önemli ölçüde artırır ve tedavi etkinliğinin gerçek zamanlı farmakodinamik değerlendirmesini mümkün kılar. Araştırmacılar, büyük ölçekli prelinik çalışmalarda kullanmadan önce, kendi özel deney koşulları altında lusiferaz aktivitesini, MMR durumunu ve büyüme kinetiğini doğrulamalıdır.

Organism

İnsan

Tissue

Metastatik

Disease

Kolon adenokarsinomu

Metastatic site

Sol supraklaviküler lenf nodu

Özellikler

Age

56 yıl

Gender

Erkek

Ethnicity

Kafkas

Morphology

Epitel benzeri

Lovo-Luc | 305682

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation

Lovo-Luc (Cytion katalog numarası 305682)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_4Y03

GMO Status

GMO-S1: Bu hücre hattı, replikasyon yeteneği olmayan lentiviral transdüksiyon yoluyla eklenen, kararlı bir şekilde entegre edilmiş ateşböceği lusiferaz raportör kasetini (Luc2, kodon optimizasyonlu) içerir. Ortaya çıkan poliklonal hücre popülasyonu, puromisin seleksiyonu (1–5 µg/mL) altında muhafaza edilmiştir. S1 güvenlik sınıfı gereklidir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Antigen expression

HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, B kan grubu, Luc2 (ateşböceği, kodon optimizasyonlu)

Isoenzymes

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

Oncogenes

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

Tumorigenic

Evet, çıplak farelerde

Reverse transcriptase

Negatif

Products

Karsinoembriyonik antijen (CEA) 908 ng/106 hücre/10 gün

Mutational profile

Mutasyon: p.Lys437Argfs*5, Heterozigot; Mutasyon: p.Arg1114Ter, Heterozigot; Mutasyon: p.Met1431fs*42, Heterozigot; Mutasyon: p.Arg2816Gln, Heterozigot; Mutasyon: p.Leu15Phefs*41, Heterozigot; Mutasyon: p.Arg505Cys, Heterozigot; Mutasyon: p.Gly13Asp, Heterozigot; Mutasyon: p.Ala292Val, Heterozigot; Mutasyon: p.Lys128Serfs*35, Homozigot

Elleçleme

Lovo-Luc | 305682

Culture Medium	Ham's F12K Medium, w: 2.0 mM L-Glutamin, w: 2.0 mM Sodyum piruvat, w: 2.5 g/L NaHCO ₃ (Cytion makale numarası 820608a)
Supplements	Ortamı %10 FBS ile takviye edin
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24-48 saat
Subculturing	Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.
Split ratio	1'den 3'e kadar
Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
Fluid renewal	haftada 2 ila 3 kez
Freeze medium	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı + %10 DMSO kullanıyoruz.

Lovo-Luc | 305682

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir ajan içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Karışımı 200 x g'de 5 dakika santrifüjleyin, dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Çözülme Sonrası Kurtarma altında açıklanan prosedürü izleyin

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Storage
Conditions**

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz