Product sheet

Лово-Люк | 305682

Загальна інформація

Description	LoVo-Luc — це біолюмінесцентний варіант клітинної лінії LoVo, отриманої з аденокарциноми товстої кишки людини, модифікований для стабільної експресії репортерного гена люциферази світлячка. Базова клітинна лінія LoVo була створена з метастатичного лівого надключичного лімфатичного вузла, ураженого колоректальною аденокарциномою, у 56-річного пацієнта чоловічої статі і є однією з найпоширеніших клітинних ліній колоректального раку в онкологічних дослідженнях. Клітини LoVo мають епітеліоподібну морфологію та характеризуються мікросателітною нестабільністю (MSI), дефіцитом репарації місматчів (dMMR) та експресією онкогенів, зокрема Myc, myb, ras, fos та p53. Ці особливості роблять LoVo актуальною моделлю для вивчення біології колоректального раку з дефіцитом репарації місматчів та терапевтичних реакцій, зокрема чутливості до імунотерапії. Стабільна інтеграція люциферази в клітинах LoVo-Luc дозволяє проводити чутливу кількісну біолюмінесцентну візуалізацію (BLI) пухлинного навантаження в моделях ксенотрансплантатів з використанням імунокомпрометованих реципієнтів. Люмінесцентний сигнал корелює з кількістю життєздатних пухлинних клітин, що забезпечує неінвазивний довготривалий моніторинг приживлення пухлини, кінетики її росту та реакції на лікування. LoVo-Luc є особливо цінним для доклінічних досліджень з оцінки інгібіторів імунних контрольних точок, хіміотерапевтичних засобів та цільових терапій у контексті колоректального раку з дефіцитом MMR, а також для високопродуктивного скринінгу лікарських засобів та механістичних досліджень біології колоректального раку. LoVo-Luc зберігає усталені молекулярні характеристики батьківської лінії LoVo, включаючи її фенотип MSI, профіль експресії онкогенів та продукцію карциноембріонального антигену (CEA). Репортер люциферази суттєво підвищує продуктивність експериментів та дозволяє проводити фармакодинамічну оцінку ефективності лікування в режимі реального часу. До початку використання у масштабних доклінічних дослідженнях дослідникам слід перевірити активність люциферази, статус MMR та кінетику росту в конкретних експериментальних умовах.
Organism	Людина
Tissue	Метастатичний
Disease	Аденокарцинома товстої кишки
Metastatic site	Лівий надключичний лімфовузол

Характеристики

Age	56 років
Gender	Чоловік
Ethnicity	Кавказець

Лово-Люк | 305682

Morphology	Епітеліальноподібні
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	Lovo-Luc (номер у каталозі Cytion — 305682)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4Y03
GMO Status	GMO-S1: Ця клітинна лінія містить стабільно інтегровану репортерну касету люциферази світлячка (Luc2, з оптимізацією кодонів), введену шляхом реплікаційно-некомпетентної лентивірусної трансдукції. Отриману поліклональну клітинну популяцію підтримували в умовах селекції пуроміцином (1–5 мкг/мл). Необхідний рівень біобезпеки S1. Ця класифікація діє лише на території Німеччини та може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Antigen expression	HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, група крові B, Luc2 (світлячок, кодон-оптимізований)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1-2, 6PGD, A, ES-D, 1
Oncogenes	Myc +, myb +, ras +, fos +, p53 +, sis -, abl -, ros -, src -
Tumorigenic	Так, у голих мишей
Reverse transcriptase	Негативно
Products	Карциноембріональний антиген (CEA) 908 нг/106 клітин/10 днів
Mutational profile	Мутація: p.Lys437Argfs*5, гетерозиготна; Мутація: p.Arg1114Ter, гетерозиготна; Мутація: p.Met1431fs*42, гетерозиготна; Мутація: p.Arg2816Gln, гетерозиготна; Мутація: p.Leu15Phefs*41, гетерозиготна; Мутація: p.Arg505Cys, гетерозиготна; Мутація: p.Gly13Asp, гетерозиготна; Мутація: p.Ala292Val, гетерозиготна; Мутація: p.Lys128Serfs*35, гомозиготна

Лово-Люк | 305682

Обробка

Culture Medium	HAMSF12
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Doubling time	24–48 годин
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Split ratio	від 1 до 3
Seeding density	Від 1 до 3 x 10^4 клітин/^{см2}
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Freeze medium	В якості середовища для кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після розморожування.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Центрифугуйте суміш при 200 x g протягом 5 хвилин, обережно відкиньте надосадову рідину, що містить заморожувальне середовище.

7. Виконайте процедуру, описану в розділі Відновлення після відтавання

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз