

Lovo-Luc | 305682

Renseignements généraux

Description

LoVo-Luc est un dérivé bioluminescent de la lignée cellulaire humaine LoVo d'adénocarcinome colorectal, modifiée génétiquement pour exprimer de manière stable un gène rapporteur de luciférase de luciole. La lignée cellulaire parentale LoVo a été établie à partir d'un ganglion lymphatique supraclaviculaire gauche métastatique provenant d'un adénocarcinome colorectal chez un patient de 56 ans; elle compte parmi les lignées cellulaires de cancer colorectal les plus largement utilisées dans la recherche sur le cancer. Les cellules LoVo présentent une morphologie de type épithélial et se caractérisent par une instabilité des microsatellites (MSI), un déficit en réparation des mésappariements (dMMR) et l'expression d'oncogènes, notamment Myc, myb, ras, fos et p53. Ces caractéristiques font de LoVo un modèle pertinent pour l'étude de la biologie du cancer colorectal présentant un déficit de réparation des mésappariements et des réponses thérapeutiques, y compris la sensibilité à l'immunothérapie.

L'intégration stable de la luciférase dans la lignée LoVo-Luc permet une imagerie par bioluminescence (IBL) sensible et quantitative de la charge tumorale dans des modèles de xénogreffes utilisant des hôtes immunodéprimés. Le signal luminescent est en corrélation avec le nombre de cellules tumorales viables, ce qui facilite le suivi longitudinal non invasif de la prise de greffe, de la cinétique de croissance et de la réponse au traitement. La lignée LoVo-Luc est particulièrement utile pour les études précliniques évaluant les inhibiteurs de points de contrôle immunitaires, les agents chimiothérapeutiques et les thérapies ciblées dans le contexte du cancer colorectal présentant un déficit en MMR, ainsi que pour le criblage de médicaments à haut débit et les études mécanistiques de la biologie du cancer colorectal.

LoVo-Luc conserve les caractéristiques moléculaires établies de la lignée parentale LoVo, notamment son phénotype MSI, son profil d'expression des oncogènes et la production de l'antigène carcino-embryonnaire (ACE). Le rapporteur luciférase améliore considérablement le débit expérimental et permet une évaluation pharmacodynamique en temps réel de l'efficacité du traitement. Les chercheurs doivent vérifier l'activité de la luciférase, le statut MMR et la cinétique de croissance dans leurs conditions expérimentales spécifiques avant toute utilisation dans le cadre d'études précliniques à grande échelle.

Organism

Humain

Tissue

Métastatique

Disease

Adénocarcinome du côlon

Metastatic site

Ganglion lymphatique supraclaviculaire gauche

Caractéristiques

Age

56 ans

Gender

Homme

Ethnicity

caucasien

Lovo-Luc | 305682

Morphology De type épithélial

Growth properties Adeptes

Données réglementaires

Citation Lovo-Luc (numéro de catalogue Cytion 305682)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4Y03

GMO Status GMO-S1 : Cette lignée cellulaire contient une cassette de rapporteur à base de luciférase de luciole (Luc2, optimisée au niveau des codons) intégrée de manière stable, introduite par transduction lentivirale à réplication incompétente. La population cellulaire polyclonale ainsi obtenue a été maintenue sous sélection à la puromycine (1 à 5 µg/mL). Un confinement de niveau S1 est requis. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut varier ailleurs.

Données biomoléculaires

Antigen expression HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, groupe sanguin B, Luc2 (luciole, codon optimisé)

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

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

Tumorigenic Oui, chez les souris nues

Reverse transcriptase Négatif

Products Antigène carcino-embryonnaire (ACE) : 908 ng/106 cellules/10 jours

Mutational profile Mutation : p.Lys437Argfs*5, hétérozygote; Mutation : p.Arg1114Ter, hétérozygote; Mutation : p.Met1431fs*42, hétérozygote; Mutation : p.Arg2816Gln, hétérozygote; Mutation : p.Leu15Phefs*41, hétérozygote; Mutation : p.Arg505Cys, hétérozygote; Mutation : p.Gly13Asp, hétérozygote; Mutation : p.Ala292Val, hétérozygote; Mutation : p.Lys128Serfs*35, homozygote

Lovo-Luc | 305682

Manipulation

Culture Medium	Milieu F12K de Ham, contenant : 2,0 mM de L-glutamine, 2,0 mM de pyruvate de sodium, 2,5 g/L de NaHCO ₃ (numéro d'article Cytion 820608a)
Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 à 48 heures
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Split ratio	1 à 3
Seeding density	1-3 × 10 ⁴ /cm ²
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet additionné de 10 % de DMSO afin d'assurer une viabilité adéquate après décongélation.

Lovo-Luc | 305682

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 200 x g pendant 5 minutes, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation.
7. Suivre la procédure décrite dans la section « Récupération après décongélation ».

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire