

Buněčná linie LoVo | 300266**Obecné informace****Description**

Buněčná linie LOVO, odvozená z adenokarcinomu tlustého střeva typu C stupně IV podle Dukese, se vyznačuje mutacemi v genu pro adenomatózní polypózu (APC), homologu virového onkogenu Kirstenova sarkomu potkana (KRAS) a nádorového proteinu p53 (TP53). Tyto genetické rysy mají zásadní význam při studiu molekulárních základů progresu kolorektálního karcinomu, metastazování a mechanismů rezistence na léky.

Buňky LoVo slouží jako důležitý model pro screening protinádorových sloučenin a díky pochopení toho, jak se u nádorových buněk, jako je LoVo, vyvíjí rezistence, mohou vědci navrhnout účinnější terapie. Buňky LoVo se také používají v molekulárně biologických studiích ke zkoumání signálních drah, které regulují růst, přežívání a metastazování nádorových buněk.

V kontextu buněčných linií lidského karcinomu tlustého střeva a kolorektálního karcinomu nabízejí buňky LoVo pohled na mechanismy růstu nádoru a proces metastazování, zejména metastazování do uzlin, a na nádorové mikroprostředí, které řídí progresi rakoviny. Použití buněk LoVo rakoviny tlustého střeva, zejména v modelech lovo xenograftů, umožňuje výzkumníkům studovat dynamiku nádorových buněk a jejich metastatický potenciál.

Hlubkové sekvenování a analýza genové exprese v buňkách LoVo vnesly světlo do specifických genů a jejich rolí v buňkách kolorektálního karcinomu. Tento výzkum poukázal na význam integrinů, jako je integrin $\beta 1$, při migraci a invazi nádorových buněk a na regulaci klíčových molekul, jako je MMP2, v signálních drahách přispívajících k pochopení invazivních vlastností nádorových buněčných linií.

LoVo buňky, jako modelový systém buněčných linií kolorektálního karcinomu, hrají klíčovou roli v pokroku našeho chápání molekulárních aspektů rakoviny, od exprese genů a proteinů až po složitosti růstu nádorů a metastazování.

Organism

Člověk

Tissue

Střevo, stupeň IV, Dukesův typ C

Disease

Adenokarcinom

Metastatic site

Levá nadklíčková lymfatická uzlina

Synonyms

LOVO

Charakteristika**Age**

56 let

Gender

Muži

Morphology

Epitelu podobné

Buněčná linie LoVo | 300266

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation LoVo (katalogové číslo Cytion 300266)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0399

Biomolekulární data

Antigen expression HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, krevní skupina B

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

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

Tumorigenic Ano, u nahých myší

Reverse transcriptase Negativní

Products Karcinoembryonální antigen (CEA) 908 ng/106 buněk/10 dní

Mutational profile Buňky LOVO nesou mutaci v kodonu 13 genu Kras: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)

Zpracování

Culture Medium Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutamin, w: 2,0 mM Pyruvát sodný, w: 2,5 g/l NaHCO₃ (číslo článku Cytion 820608a)

Supplements Doplněte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Buněčná linie LoVo | 300266

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:2 až 1:10

Seeding density 1×10^4 buněk/cm²

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buněčná linie LoVo | 300266**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buněčná linie LoVo | 300266**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,11,13,14
D13S317: 8,11
D16S539: 9,12
D5S818: 11,13
D7S820: 10,11
TH01: 9,3
TPOX: 8,9
vWA: 17,18
D3S1358: 14,16,17
D21S11: 29,31,2,32,2
D18S51: 13,18
Penta E: 10,16
Penta D: 9,10,14
D8S1179: 10
FGA: 18,20

Alely HLA

A*: '01:01:01, '32:01:01
B*: '27:08:00, '57:55:00
C*: '06:02:01
DRB1*: '13:01:01, '13:02:01
DQA1*: '01:02:01, '01:03:01
DQB1*: '06:03:01, '06:04:01
DPB1*: '02:01:02, '04:01:01
E: '01:01:01