

LoVo rakuliin | 300266

Üldine teave

Description

LOVO rakuliinile, mis on saadud IV astme Dukes'i C-tüüpi käärsoole adenokartsinoomist, on iseloomulikud mutatsioonid adenomatoosse polüpoosi koli (APC) geenis, Kirsten rotisarkoomi viirusliku onkogeeni homologis (KRAS) ja kasvajakvalku p53 (TP53). Need geneetilised omadused on olulised kolorektaalvähi progresseerumise, metastaaside tekke ja raviresistentsuse mehhanismide molekulaarsete aluste uurimisel.

LoVo rakud on kriitilise tähtsusega mudeliks vähivastaste ühendite sõelumiseks ning mõistes, kuidas LoVo-sugused vähirakud arendavad resistentsust, saavad teadlased kavandada tõhusamaid ravimeetodeid. LoVo rakke kasutatakse ka molekulaarbioloogilistes uuringutes, et uurida signaaliradu, mis reguleerivad vähirakkude kasvu, ellujäämist ja metastaaside teket.

Inimese jämesoolevähi ja kolorektaalvähi rakuliinide kontekstis annavad LoVo rakud ülevaate kasvaja kasvu ja metastaasiprotsessi mehhanismidest, eelkõige sõlmede metastaasist, ning vähi progresseerumist juhtivast kasvaja mikrokeskkonnast. LoVo käärsoolevähirakkude kasutamine, eriti lovo ksenotransplantaadi mudelites, võimaldab teadlastel uurida vähirakkude dünaamikat ja metastaatilist potentsiaali.

LoVo rakkude sügav sekveneerimine ja geeniekspressiooni analüüs on valgustanud spetsiifilisi geene ja nende rolli kolorektaalvähirakkudes. Need uuringud on toonud esile integriinide, näiteks integriini $\beta 1$, tähtsuse vähirakkude migratsioonis ja invasiivsuses ning selliste võtmemolekulide nagu MMP2 regulatsiooni signaaliradadel, mis aitavad kaasa vähirakuliinide invasiivsete omaduste mõistmisele.

LoVo rakkudel kui kolorektaalvähi rakuliinide mudelisüsteemil on keskne roll vähi molekulaarsete aspektide mõistmise edendamisel, alates geenide ja valkude ekspressioonist kuni kasvajate kasvu ja metastaaside tekkimise keerukuseni.

Organism

Inimene

Tissue

Jämesool, IV aste, Dukes'i tüüp C

Disease

Adenokartsinoom

Metastatic site

Vasakpoolne supraklavikulaarne lümfisõlm

Synonyms

LOVO

Omadused

Age

56 aastat

Gender

Mees

Morphology

Epiteelilaadsed

LoVo rakuliin | 300266

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation LoVo (Cytioni katalooginumber 300266)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0399

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, veregrupp 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 Jah, alasti hiirtel

Reverse transcriptase Negatiivne

Products Kartsiiinoembüooniline antigeen (CEA) 908 ng/106 rakku/10 päeva

Mutational profile LOVO rakud kannavad mutatsiooni Kras'i geeni 13. koodonis: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)

Töötlemine

Culture Medium Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutamiin, w: 2,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,5 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820608a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

LoVo rakuliin | 300266

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 1×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

LoVo rakuliin | 300266

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

LoVo rakuliin | 300266

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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