Product sheet

LoVo sejtvonal | 300266

Általános információk

Description	A LOVO sejtvonal, amely IV. fokozatú, Dukes-féle C típusú vastagbél-adenokarcinómából származik, az adenomatosus polyposis coli (APC) gén, a Kirsten rat sarcoma viral oncogene homológ (KRAS) és a p53 (TP53) tumorfehérje mutációival jellemezhető. Ezek a genetikai jellemzők fontosak a vastagbélrák progressziójának, áttétképződésének és a gyógyszerrezisztencia mechanizmusainak molekuláris alapjainak tanulmányozásában. A LoVo sejtek kritikus modellként szolgálnak a rákellenes vegyületek szűréséhez, és annak megértésével, hogy a LoVo-hoz hasonló rákos sejtek hogyan fejlesztenek rezisztenciát, a kutatók hatékonyabb terápiákat tervezhetnek. A LoVo sejteket molekuláris biológiai vizsgálatokban is alkalmazzák a rákos sejtek növekedését, túlélését és áttétképzését szabályozó jelátviteli útvonalak feltárására. Az emberi vastagbélrák és vastagbélrák sejtvonalakkal összefüggésben a LoVo sejtek betekintést nyújtanak a tumor növekedésének mechanizmusaiba és az áttétképződés folyamatába, különösen a csomóponti áttétképződésbe, valamint a rák progresszióját irányító tumoros mikrokörnyezetbe. A LoVo vastagbélráksejtek használata, különösen a lovo xenograft modellekben, lehetővé teszi a kutatók számára a rákos sejtek dinamikájának és metasztatikus potenciáljának tanulmányozását. A LoVo sejtekben végzett mélyszekvenálás és génexpressziós elemzés fényt derített a specifikus génekre és szerepükre a vastagbélrákos sejtekben. Ez a kutatás rávilágított az integrinek, például az integrin β1 fontosságára a rákos sejtek migrációjában és inváziójában, valamint az olyan kulcsmolekulák, mint az MMP2 szabályozására a jelátviteli útvonalakban, amelyek hozzájárulnak a rákos sejtvonalak invazív tulajdonságainak megértéséhez. A LoVo sejtek, mint a vastagbélrákos sejtvonalak modellrendszere, kulcsfontosságú szerepet játszanak a rák molekuláris aspektusainak megértésében, a gén- és fehérjeexpressziótól kezdve a tumor növekedésének és metasztázisának bonyolultságáig.
Organism	Emberi
Tissue	Vastagbél, IV. fokozat, Dukes C típusa
Disease	Adenokarcinóma
Metastatic site	Bal supraclavicularis nyirokcsomó
Synonyms	LOVO

Jellemzők

Age	56 év
Gender	Férfi
Morphology	Epithelszerű

LoVo sejtvonal | 300266

Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	LoVo (Cytion katalógusszám: 300266)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0399

Biomolekuláris adatok

Antigen expression	HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, B vércsoport
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1-2, 6PGD, A, ES-D, 1
Oncogenes	Myc +, myb + , ras +, fos +, p53 +, sis -, abl -, ros -, src -, src -
Tumorigenic	Igen, meztelen egerekben
Reverse transcriptase	Negatív
Products	Karcinoembrionális antigén (CEA) 908 ng/106 sejt/10 nap
Mutational profile	A LOVO sejtek mutációt hordoznak a Kras gén 13-as kodonjában: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)

A kezelése

Culture Medium	Ham's F12K médium, w: 2,0 mM L-Glutamin, w: 2,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,5 g/L NaHCO3 (Cytion cikkszám 820608a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase

LoVo sejtvonal | 300266

Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	1×10^4 sejt/cm^2
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm^2 sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

LoVo sejtvonal | 300266

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.

2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.

3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.

4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.

5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.

6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.

7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.

8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.
HLA allélok	**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