

Linia komórkowa LoVo | 300266

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa LOVO, pochodząca z gruczolakoraka okrężnicy typu C w stopniu IV wg Dukesa, charakteryzuje się mutacjami w genie gruczolakowatej polipowatości jelita grubego (APC), homologu onkogenu wirusowego mięsaka szczura Kirsten (KRAS) i białku nowotworowym p53 (TP53). Te cechy genetyczne mają kluczowe znaczenie w badaniu molekularnych podstaw progresji raka jelita grubego, przerzutów i mechanizmów oporności na leki.

Komórki LoVo służą jako krytyczny model do badań przesiewowych związków przeciwnowotworowych, a dzięki zrozumieniu, w jaki sposób komórki nowotworowe, takie jak LoVo, rozwijają oporność, naukowcy mogą projektować skuteczniejsze terapie. Komórki LoVo są również wykorzystywane w badaniach biologii molekularnej w celu zbadania szlaków sygnałowych, które regulują wzrost, przeżycie i przerzuty komórek nowotworowych.

W kontekście ludzkich linii komórkowych raka okrężnicy i raka jelita grubego, komórki LoVo oferują wgląd w mechanizmy wzrostu guza i proces przerzutów, w szczególności przerzutów do węzłów, a także mikrośrodowisko guza napędzające progresję raka. Wykorzystanie komórek raka jelita grubego LoVo, zwłaszcza w modelach lovo xenograft, umożliwia naukowcom badanie dynamiki komórek nowotworowych i potencjału przerzutowego.

Głębokie sekwencjonowanie i analiza ekspresji genów w komórkach LoVo rzuciły światło na konkretne geny i ich rolę w komórkach raka jelita grubego. Badania te podkreśliły znaczenie integryn, takich jak integryna $\beta 1$, w migracji i inwazji komórek nowotworowych, a także regulację kluczowych cząsteczek, takich jak MMP2, w szlakach sygnałowych przyczyniających się do zrozumienia inwazyjnych właściwości linii komórek nowotworowych.

Komórki LoVo, jako modelowy system linii komórkowych raka jelita grubego, odgrywają kluczową rolę w pogłębianiu naszego zrozumienia molekularnych aspektów raka, od ekspresji genów i białek po zawitości wzrostu guza i przerzutów.

Organism Człowiek

Tissue Okrężnica, stopień IV, typ C wg Dukesa

Disease Gruczolakorak

Metastatic site Lewy nadobojczykowy węzeł chłonny

Synonyms LOVO

Charakterystyka

Age 56 lat

Gender Mężczyzna

Linia komórkowa LoVo | 300266

Morphology Podobny do nabłonka

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation LoVo (numer katalogowy Cytion 300266)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0399

Dane biomolekularne

Antigen expression HLA A11, B15, B17, Cw1, Cw3, grupa krwi 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 Tak, u nagich myszy

Reverse transcriptase Negatywny

Products Antygen rakowo-łtodowy (CEA) 908 ng/106 komórek/10 dni

Mutational profile Komórki LOVO są nosicielami mutacji w kodonie 13 genu Kras: GGC(Wt Gly) >GAC(Asp)

Obsługa

Culture Medium Pożywka Ham's F12K, w: 2,0 mM L-glutamina, w: 2,0 mM pirogromian sodu, w: 2,5 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820608a)

Supplements Uzupelnic podloze 10% FBS

Linia komórkowa LoVo | 300266

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecane są proporcje od 1:2 do 1:10

Seeding density 1×10^4 komórek/cm²

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Post-Thaw Recovery Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Linia komórkowa LoVo | 300266

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Linia komórkowa LoVo | 300266**Shipping Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

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

Allele 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