Product sheet

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 β1, 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 zawiłości 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-płodowy (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 pirogronian sodu, w: 2,5 g/L NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820608a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 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. Odrzucić 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 kom^{órek}/cm^2
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm^2 i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć 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 przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x 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 zawiesinowych, 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% $_{CO2}$, 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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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 i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane 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