Product sheet

LS513 Клетки | 300457

Обща информация

Description	Клетъчната линия LS513 е добре характеризиран модел на колоректален карцином, получен от биопсия на първична туморна тъкан, взета през 1985 г. от 63-годишен пациент от кавказки произход. Туморът е класифициран като муциносекретиращ цекален карцином тип Dukes' C, локализиран в клапата на Баухин. Клетките LS513 са адхезивни по природа и са проявили мултилекарствена резистентност (MDR), което ги прави ценен модел за изучаване на механизмите на лекарствена резистентност при колоректален рак. Тези клетки проявяват 30% ефективност при образуване на колонии в метилцелулоза и са туморогенни при голи мишки, което допълнително потвърждава тяхното приложение в онкогенни изследвания. На генетично ниво LS513 клетките проявяват няколко забележителни характеристики. Те са положителни за онкогена p53 от див тип и проявяват карциноембрионален антиген (CEA) в приблизително 50% от клетките. Освен това, LS513 клетките изразяват антигени от клас I на главния хистосъвместимостен комплекс (MHC), включително HLA и бета 2 микроглобулин, но нямат антигени от клас II на MHC (HLA-DR, DQ и DP). Клетките също така произвеждат трансформиращ растежен фактор бета 1 (TGF бета-1) със скорост 83 pg на 10^6 клетки за 24 часа. Забележително е, че TGF бета-1 действа като инхибитор на пролиферацията на LS513 клетки, докато TGF бета-2 няма значителен ефект върху растежа им. В сравнение с клетъчната линия LS1034, LS513 клетките са 100 пъти по-малко чувствителни към TGF бета-1, което показва различни реакции към сигнализирането на растежния фактор между тези два модела на колоректален карцином. Клетките LS513 проявяват уникален профил на антигенна експресия, със силна положителност за междуклетъчна адхезивна молекула 1 (ICAM-1) и HLA клас I антигени. Липсата на експресия на MHC клас II антигени е особено забележителна, тъй като предполага потенциални механизми за избягване на имунната система, които биха могли да бъдат свързани с прогресията и метастазирането на колоректалния рак. Тези характеристики, заедно с тяхната резистентност към множество лекарства и способността им да образуват тумори в имунокомпрометирани мишки, правят LS513 клетките мощен инструмент за изучаване на молекулярните и клетъчните основи на колоректалния рак, особено в контекста на имунните взаимодействия и терапевтичната резистентност.
Organism	Човек
Tissue	Колоректален
Disease	Аденокарцином
Synonyms	LS513, LS 513

Характеристики

Age	63 години
Gender	Мъжки

LS513 Клетки | 300457

Ethnicity	Кавказки
Morphology	Подобни на епител
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	LS513 (каталожен номер 300457 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1386

Биомолекулярни данни

Protein expression	CEA+ (50%), p53+
Antigen expression	Положителен карциноембрионален антиген (CEA), ICAM-1, HLA клас I
Tumorigenic	Да, образува тумори в голи мишки
Products	Трансформиращ растежен фактор бета 1 (TGF бета-1, 83 pg на 10 експ6 клетки за 24 часа)
Karyotype	Могат да се разграничат две линии на стъблото. Основната е представена в 65% от клетките, с модален брой 51,xY и 3 маркера: M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3 и монозомия 15. Втората стволова линия има модален хромозомен номер 52,xY и представя M2 и M3 плюс изохромозома за дългото рамо на хромозома 1, наречена M4. Тризомия 5,7, тетразомия 13 и монозомия 2 и 3 са налице във всички анализирани клетки, като линията не показва монозомия 15.

Работа с

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO3 (номер на изделието на Cytion 820400a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS

LS513 Клетки | 300457

Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1×10^4 клетки/cm^2
Fluid renewal	На всеки 3 дни
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

LS513 Клетки | 300457

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

LS513 Клетки | 300457

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.
HLA алели	**A***: '32:01:01 **B***: '51:01:01 **C***: '01:02:01 **DRB1***: '11:01:01 **DQA1***: '05:05:01 **DQB1***: '03:01:01 **DPB1***: '04:01:01 **E**: '01:01:01