

## Клетки LS174T | 300392

## Обща информация

## Description

Клетъчната линия LS147T е вариант на LS-180, като и двете са получени от аденокарцином на дебелото черво тип В на Дюк при 58-годишна пациентка от бялата раса. Първоначалната линия LS-180 е създадена чрез култивиране на смляна туморна тъкан в продължение на 10 месеца. LS-147T, както и родителската ѝ линия, се отличават с експресия на множество онкогени, включително *mys*, *myb*, *ras* и *fos*, като същевременно са отрицателни за други като *sis*, *abl* и *ros*. Тази линия също така експресира високи нива на карциноембрионален антиген (CEA), интерлевкин 6 (IL-6) и интерлевкин 10 (IL-10), които са важни маркери и потенциални цели в изследванията на колоректалния рак.

Тези клетки показват няколко ключови характеристики на епителните клетки на дебелото черво, включително обилни микровили и интрацитоплазмени муцинови вакуоли, които са характеристики, обикновено свързани със секреторните клетки в лигавицата на дебелото черво. Проучванията с електронна микроскопия потвърждават тези структурни детайли, което допълнително подкрепя техния произход и диференцировъчен статус. Важно е да се отбележи, че клетките LS-147T са туморогенни при имунодепривирани мишки, като постоянно произвеждат тумори при подкожно инокулиране с висока плътност на клетките, което потвърждава техния злокачествен потенциал.

Освен това клетъчната линия LS-147T е особено ценна за изследвания, насочени към молекулярните и имунологичните аспекти на колоректалния рак. Съобщава се, че тази линия се поддава по-лесно на субкултивиране в сравнение с родителската си линия LS-180, което я прави по-практичен избор за дългосрочни проучвания. Силното производство на CEA от тези клетки, което е значително по-високо от това на други утвърдени линии като HT-29, прави LS-147T критичен модел за разбиране на динамиката на туморните маркери и за проучване на целеви терапии при колоректалния рак.

## Organism

Човек

## Tissue

Дебело черво

## Disease

Аденокарцином

## Synonyms

Ls174T, LS174t, Ls-174-T, LS-174-T, LS 174 T, LS174T, Ls-174T, LS 174T, LS-174, LS174, LS174

## Характеристики

## Age

58 години

## Gender

Жена

## Ethnicity

Кавказки

## Morphology

Подобни на епител

## Клетки LS174T | 300392

**Growth properties** Придържачи се

## Регулаторни данни

**Citation** LS174T (каталожен номер 300392 на Cytion)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1384

## Биомолекулярни данни

**Protein expression** Антиген на дебелото черво 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, експресия на мРНК +

**Antigen expression** HLA A2, B13, B50, кръвна група O

**Isoenzymes** ADA, 1: G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 2, PGD, A, ES-D, 1, PEP-D, 1

**Oncogenes** Myc +, myb +, ras +, fos +, p53 +, sis -, abl -, ros -, src -

**Tumorigenic** Да, при голи мишки

**Reverse transcriptase** Отрицателен

**Products** Карциноембрионален антиген (CEA) 1944 ng/106 клетки за 10 дни, муцин, интерлевкин-10 (IL-10), интерлевкин-6 (IL-6)

**Mutational profile** Клетките LS-174T носят мутация в кодон 12 на гена Kras: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)

**Karyotype** 45,х с липсваща една х-хромозома, но без други хромозомни аберации

## Работа с

## Клетки LS174T | 300392

**Culture Medium** MEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)

**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA

**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** 5 до  $8 \times 10^4$  клетки/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 до 3 пъти седмично

**Post-Thaw Recovery** След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност  $5 \times 10^4$  клетки/cm<sup>2</sup> 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.

## Клетки LS174T | 300392

**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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 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 антимикуробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 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 разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при  $300 \times g$  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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

## Клетки LS174T | 300392

### 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\***: '02:xx, '30:01:01

**B\***: '13:xx, '35:01:01

**C\***: '04:01:01, '06:xx

**DRB1\***: '04:02:01, '07:01:01

**DQA1\***: '02:01:01, '03:01:01

**DQB1\***: '02:02:01, '03:02:01

**DPB1\***: '03:01:01G, '04:01:01

**E**: '01:01, '01:03