Product sheet

Buňky LS180 | 305823

Obecné informace

Description	LS180 je buněčná linie lidského adenokarcinomu tlustého střeva vytvořená z primárního nádoru dospělé pacientky se středně dobře diferencovaným adenokarcinomem tlustého střeva, který metastázoval do perikolické tukové tkáně. Morfologie buněk je epiteliální, mají oválný až polygonální tvar a průměr od 20 do 40 µm. Vykazují ultrastrukturální charakteristiky typické pro normální buňky sliznice tlustého střeva, včetně hojných mikrovilů - zvláště výrazných u sekrečních buněk - a přítomnosti intracytoplazmatických mucinových vakuol. Tyto buňky vykazují charakteristické znaky neoplazie, včetně vysoké produkce karcinoembryonálního antigenu (CEA) a schopnosti tvořit nádory v křeččích lícních váčcích i u imunodeficitních myší, což svědčí o jejich nádorovém potenciálu in vivo. Buňky LS180 se vyznačovaly výjimečně vysokou produkcí CEA, kdy uvolňovaly přibližně 900krát více CEA na buňku do kultivačního média a nesly 30krát více CEA asociovaného s buňkou než jiné linie karcinomu tlustého střeva, jako je HT-29. To z LS180 činí cenný model pro studium biochemických, imunologických a funkčních vlastností neoplastického epitelu tlustého střeva, zejména ve vztahu k nádorovým markerům asociovaným s CEA. Buňky byly karyotypizovány a bylo potvrzeno, že mají abnormální chromozomální doplňky odpovídající neoplastické transformaci. Jejich epiteliální identita a vlastnosti spojené s nádorem je předurčují k použití v imunologických testech, při screeningu léčiv a ve studiích biologie kolorektálního karcinomu a léčebné odpovědi. Kromě toho je LS180 součástí encyklopedie nádorových buněčných linií (Cancer Cell Line Encyclopedia, CCLE), kde byla důkladně charakterizována pomocí multiomického profilování zahrnujícího proteomiku, transkriptomiku a mutační data. LS180 je klasifikována jako mikrosatelitně nestabilní (MSI) buněčná linie, což je fenotyp spojený s hypermutovaným genomem a známý tím, že ovlivňuje organizaci proteomu a zranitelnost při léčbě. Proteomická analýza LS180 odhalila, že buněčné linie MSI, včetně LS180, vykazují významnou dysregulaci proteinových komplexů zapojených do sledování mutací a kontroly translace, což nabízí pohled na mechanismy citlivosti a rezistence k lékům. Proteomická data dále potvrzují, že rozsáhlá koordinace exprese proteinů na úrovni drah je u LS180 oddělena od exprese RNA, což podtrhuje význam přímého zkoumání na úrovni proteinů.
Organism	Člověk
Tissue	Střeva
Disease	Adenokarcinom
Synonyms	LS-180, LS 180, Laboratoř chirurgie 180

Charakteristika

Age	58 let
Gender	Ženy
Ethnicity	Kavkazský

Buňky LS180 | 305823

Cell type	Epitelová buňka tlustého střeva
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	LS180 (katalogové číslo Cytion 305823)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0397

Biomolekulární data

Antigen expression	Sérologicky definovaný antigen 3 pro rakovinu tlustého střeva; Homo sapiens, exprimovaný HLA A2, B13, B50; krevní skupina O
Isoenzymes	ADA, 1 ES-D, 1 G6PD, B PEP-D, 1 PGD, A PGM1, 1 PGM3, 2
Tumorigenic	Ano; Ano, u nahých myší
Mutational profile	Mutace: ACVR2A, Simple, p.Lys437Argfs*5 (c.1310delA), Homozygot, Mutace, CTNNB1, Simple, p.Ser45Phe (c.134C>T), Homozygot, KRAS, Simple, p.Gly12Asp (c.35G>A), Heterozygot. Mutace, PIK3CA, Simple, p.His1047Arg (c.3140A>G), Nespecifikováno Mutace, TGFBR2, Simple, p.Lys128Serfs*35 (c.383delA), Homozygotní; Mutace, TP53
Karyotype	Modální číslo = 45; rozsah = 42 až 47.

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO3, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Buňky LS180 | 305823

Doubling time	72 hodin
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný

Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.