

LS513 Buňky | 300457

Obecné informace

Description

Buňčná linie LS513 je dobře charakterizovaný model kolorektálního karcinomu odvozený z biopsie primárního nádoru odebrané v roce 1985 u 63letého bělošského pacienta. Nádor byl klasifikován jako Dukesův C mucin-sekreční karcinom slepého střeva lokalizovaný v Bauhinově chlopni. Buňky LS513 jsou adhezivní a vykazují multirezistenci na léky (MDR), což z nich činí cenný model pro studium mechanismů rezistence na léky u kolorektálního karcinomu. Tyto buňky vykazují 30% účinnost tvorby kolonií v methylcelulóze a jsou tumorigenní u nahých myší, což dále potvrzuje jejich použití v onkogenních studiích.

Na genetické úrovni vykazují buňky LS513 několik pozoruhodných vlastností. Jsou pozitivní na onkogen p53 divokého typu a exprimují karcinoembryonální antigen (CEA) přibližně na 50 % buněk. Kromě toho buňky LS513 exprimují antigeny hlavního histokompatibilního komplexu (MHC) třídy I, včetně HLA a beta 2 mikroglobulinu, ale postrádají antigeny MHC třídy II (HLA-DR, DQ a DP). Buňky také produkují transformující růstový faktor beta 1 (TGF beta-1) v množství 83 pg na 10^6 buněk za 24 hodin. Je pozoruhodné, že TGF beta-1 působí jako inhibitor proliferace buněk LS513, zatímco TGF beta-2 nemá na jejich růst žádný významný vliv. Ve srovnání s buněčnou linií LS1034 jsou buňky LS513 100krát méně citlivé na TGF beta-1, což naznačuje odlišné reakce na signály růstového faktoru mezi těmito dvěma modely kolorektálního karcinomu.

Buňky LS513 vykazují jedinečný profil exprese antigenů, se silnou pozitivitou pro intercelulární adhezivní molekulu 1 (ICAM-1) a antigeny HLA třídy I. Zvláště pozoruhodná je absence exprese antigenů MHC třídy II, která naznačuje potenciální mechanismy imunitní evaze, které by mohly být relevantní pro progresi a metastázy kolorektálního karcinomu. Tyto vlastnosti, spolu s jejich rezistencí vůči více lékům a schopností tvořit nádory u imunokompromitovaných myší, činí buňky LS513 mocným nástrojem pro studium molekulárních a buněčných základů kolorektálního karcinomu, zejména v kontextu imunitních interakcí a terapeutické rezistence.

Organism	Člověk
Tissue	Kolorektální
Disease	Adenokarcinom
Synonyms	LS513, LS 513

Charakteristika

Age	63 let
Gender	Muži
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Epitelu podobné

LS513 Buňky | 300457

Growth properties	Adherentní
--------------------------	------------

Regulační údaje

Citation	LS513 (katalogové číslo Cytion 300457)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1386
-----------------------------	-----------

Biomolekulární data

Protein expression	CEA+ (50 %), p53+
---------------------------	-------------------

Antigen expression	Pozitivní karcinoembryonální antigen (CEA), ICAM-1, HLA I. třídy
---------------------------	--

Tumorigenic	Ano, vytváří nádory u nahých myší
--------------------	-----------------------------------

Products	Transformující růstový faktor beta 1 (TGF beta-1, 83 pg na 10 exp6 buněk za 24 hodin)
-----------------	---

Karyotype	Lze rozlišit dvě linie kmene. Hlavní byla zastoupena v 65 % buněk, s modálním počtem 51,xY a 3 markery, M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3 a monosomií 15. Druhá kmenová linie měla modální číslo chromozomu 52,xY a vykazovala M2 a M3 plus izochromozom pro dlouhé rameno chromozomu 1 nazvaný M4. Trisomie 5,7, tetrasomie 13 a monosomie 2 a 3 byly přítomny ve všech analyzovaných buňkách, linie nevykazovala monosomii 15.
------------------	--

Zpracování

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820400a)
-----------------------	---

Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
--------------------	--------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

LS513 Buňky | 300457

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:3 až 1:4

Seeding density 1×10^4 buněk/cm²

Fluid renewal Každé 3 dny

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

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 kryem.

LS513 Buňky | 300457

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, 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 odstředujte 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 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žádný

**Freezing
Procedure**

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.

**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.

LS513 Buňky | 300457

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 / Genetický profil / HLA

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.

Profil STR

CSF1PO: 10
D13S317: 9,10
D16S539: 12,13
D5S818: 11
D7S820: 8,11
TH01: 8
TPOX: 8
vWA: 16,17
D3S1358: 15
D21S11: 30
D18S51: 12,18
Penta E: 5,18
Penta D: 9,14
D8S1179: 13
FGA: 19,21

Alely HLA

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