

Buňky LS174T | 300392**Obecné informace****Description**

Buněčná linie LS147T je variantou linie LS-180. Obě linie pocházejí z adenokarcinomu tlustého střeva typu B Duke u 58leté bělošské pacientky. Původní linie LS-180 byla vytvořena kultivací mleté nádorové tkáně po dobu 10 měsíců. Linie LS-147T se spolu se svou mateřskou linií vyznačuje expresí mnoha onkogenů včetně myc, myb, ras a fos, zatímco pro jiné, jako jsou sis, abl a ros, je negativní. Tato linie také exprimuje vysoké hladiny karcinoembryonálního antigenu (CEA), interleukinu 6 (IL-6) a interleukinu 10 (IL-10), což jsou důležité markery a potenciální cíle ve výzkumu kolorektálního karcinomu.

Tyto buňky vykazují několik klíčových charakteristik epiteliálních buněk tlustého střeva, včetně hojných mikrovilů a intracytoplazmatických mucinových vakuol, což jsou znaky typické pro sekreční buňky ve sliznici tlustého střeva. Studie elektronové mikroskopie tyto strukturní detaily potvrdily, což dále podporuje jejich původ a diferenační status. Důležité je, že se ukázalo, že buňky LS-147T jsou tumorigenní u imunodeprivovaných myší a při subkutánní inokulaci ve vysoké hustotě buněk trvale vytvářejí nádory, což potvrzuje jejich maligní potenciál.

Buněčná linie LS-147T je navíc zvláště cenná ve studiích zaměřených na molekulární a imunologické aspekty kolorektálního karcinomu. Bylo zjištěno, že tato linie se ve srovnání se svou mateřskou linií LS-180 snáze subkultivuje, což z ní činí praktičtější volbu pro dlouhodobé studie. Silná produkce CEA těmito buňkami, která je výrazně vyšší než u jiných zavedených linií, jako je HT-29, činí z LS-147T kritický model pro pochopení dynamiky nádorových markerů a zkoumání cílené léčby kolorektálního karcinomu.

Organism

Člověk

Tissue

Střeva

Disease

Adenokarcinom

Synonyms

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

Charakteristika**Age**

58 let

Gender

Ženy

Ethnicity

Kavkazský

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Adherentní

Buňky LS174T | 300392

Regulační údaje

Citation	LS174T (katalogové číslo Cytion 300392)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1384

Biomolekulární data

Protein expression	Colon Antigen 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, exprese mRNA +
Antigen expression	HLA A2, B13, B50, krevní skupina 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	Ano, u nahých myší
Reverse transcriptase	Negativní
Products	Karcinoembryonální antigen (CEA) 1944 ng/106 buněk za 10 dní, mucin, interleukin-10 (IL-10), interleukin-6 (IL-6)
Mutational profile	Buňky LS-174T nesou mutaci v kodonu 12 genu Kras: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)
Karyotype	45,x s chybějícím jedním chromozomem x, ale bez dalších chromozomálních aberací

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO ₃ , w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA

Buňky LS174T | 300392

Dissociation Reagent Accutase

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 rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:2 až 1:5

Seeding density 5 až 8×10^4 buněk/cm²

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

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.

Buňky LS174T | 300392**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.

Buňky LS174T | 300392**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

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 10,14
D13S317: 10,11
D16S539: 11,13
D5S818: 11,15
D7S820: 10.3,11
TH01: 6,7
TPOX: 8,9
vWA: 15,17,18,19
D3S1358: 15,17
D21S11: 29,30,31
D18S51: 11,13
Penta E: 15,16
Penta D: 10
D8S1179: 11,12,16
FGA: 21,22
D1S1656: 12,13,14,18.3,19.3
D6S1043: 12,13,14
D2S1338: 18,22
D12S391: 18,19,20
D19S433: 13,14,15

Alely HLA

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