

LS513-celler | 300457

Generel information

Description

LS513-cellelinjen er en velkarakteriseret kolorektal karcinommodel, der stammer fra en primær tumorbiopsi taget i 1985 fra en 63-årig kaukasisk mandlig patient. Tumoren blev klassificeret som et Dukes' C-mucin-udskillende cecumkarcinom placeret ved Bauhin-klappen. LS513-celler er adhærente og har vist multiresistens (MDR), hvilket gør dem til en værdifuld model for undersøgelse af lægemiddelresistensmekanismer i kolorektal cancer. Disse celler udviser en 30 % kolonidannende effektivitet i methylcellulose og er tumorigeniske i nude-mus, hvilket yderligere validerer deres anvendelse i onkogene studier.

På det genetiske niveau udviser LS513-celler flere bemærkelsesværdige egenskaber. De er positive for p53-wildtype-onkogenet og udtrykker carcinoembryonalt antigen (CEA) på ca. 50 % af cellerne. Derudover udtrykker LS513-celler major histocompatibility complex (MHC) klasse I-antigener, herunder HLA og beta 2-mikroglobulin, men mangler MHC klasse II-antigener (HLA-DR, DQ og DP). Cellerne producerer også transformerende vækstfaktor beta 1 (TGF beta-1) med en hastighed på 83 pg pr. 10^6 celler pr. 24 timer. Det er bemærkelsesværdigt, at TGF beta-1 fungerer som en hæmmer af LS513-celleproliferation, mens TGF beta-2 ikke har nogen signifikant effekt på deres vækst. Sammenlignet med LS1034-cellelinjen er LS513-celler 100 gange mindre følsomme over for TGF beta-1, hvilket indikerer forskellige reaktioner på vækstfaktorsignalering mellem disse to kolorektale karcinommodeller.

LS513-celler udviser et unikt profil af antigenekspression med stærk positivitet for intercellulært adhæsionsmolekyle 1 (ICAM-1) og HLA klasse I-antigener. Manglen på MHC klasse II-antigenekspression er særlig bemærkelsesværdig, da den tyder på potentielle immununddragelsesmekanismer, der kan være relevante for kolorektal kræftprogression og metastase. Disse egenskaber, sammen med deres resistens over for flere lægemidler og deres evne til at danne tumorer i immunforsvarskompromitterede mus, gør LS513-celler til et kraftfuldt værktøj til at studere de molekylære og cellulære grundlag for kolorektal kræft, især i sammenhæng med immuninteraktioner og terapeutisk resistens.

Organism	Menneske
Tissue	Kolorektal
Disease	Adenokarcinom
Synonyms	LS513, LS 513

Karakteristika

Age	63 år
Gender	Mand
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende

LS513-celler | 300457

Growth properties	Vedhæftende
--------------------------	-------------

Regulatoriske data

Citation	LS513 (Cytion katalognummer 300457)
-----------------	-------------------------------------

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

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

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

Biomolekylære data

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

Antigen expression	Carcinoembryonalt antigen (CEA), ICAM-1, HLA klasse I positiv
---------------------------	---

Tumorigenic	Yeess, danner tumorer i nøgne mus
--------------------	-----------------------------------

Products	Transforming growth factor beta 1 (TGF beta-1, 83 pg pr. 10 exp6-celler pr. 24 timer)
-----------------	---

Karyotype	Der kan skelnes mellem to stamlinjer. Den vigtigste var repræsenteret i 65% af cellerne med et modalt antal på 51,X,Y og 3 markører, M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3, og en monosomi 15. Den anden stamlinje havde et modalt kromosomtallet på 52,X,Y og præsenterede M2 og M3 plus et isokromosom for den lange arm af kromosom 1 kaldet M4. En trisomi 5,7, en tetrasomi 13 og en monosomi 2 og 3 var til stede i alle de analyserede celler, og linjen udviste ikke monosomi 15.
------------------	---

Håndtering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Sodium pyruvate, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820400a)
-----------------------	---

Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
--------------------	----------------------------

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

LS513-celler | 300457

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Seeding density 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal Hver 3. dag

Post-Thaw Recovery Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

Freeze medium Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

LS513-celler | 300457

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

LS513-celler | 300457

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

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