

LS174T-celler | 300392

Generel information

Description

LS147T-cellelinjen er en variant af LS-180, som begge stammer fra et Duke's type B adenokarcinom i tyktarmen hos en 58-årig hvid kvindelig patient. Den oprindelige LS-180-linje blev etableret ved at dyrke det hakkede tumurvæv i 10 måneder. LS-147T er sammen med sin moderlinje bemærkelsesværdig for sit udtryk for flere onkogener, herunder myc, myb, ras og fos, mens den er negativ for andre som sis, abl og ros. Denne linje udtrykker også høje niveauer af carcinoembryonalt antigen (CEA), interleukin 6 (IL-6) og interleukin 10 (IL-10), som er vigtige markører og potentielle mål for forskning i kolorektal cancer.

Disse celler udviser flere nøglekarakteristika for kolonepitelceller, herunder rigelige mikrovilli og intracytoplasmatiske mucinvakuoler, som er træk, der typisk forbindes med sekretoriske celler i kolonlimhinden. Elektronmikroskopiske undersøgelser har bekræftet disse strukturelle detaljer, hvilket yderligere understøtter deres oprindelse og differentieringsstatus. Det er vigtigt at bemærke, at LS-147T-celler har vist sig at være tumorigeniske i immundepriverede mus og konsekvent producerer tumorer, når de inokuleres subkutan i høje celletætheder, hvilket bekræfter deres maligne potentiale.

Desuden er LS-147T-cellelinjen særlig værdifuld i undersøgelser, der fokuserer på de molekylære og immunologiske aspekter af kolorektal cancer. Det er blevet rapporteret, at denne linje er lettere at subkultivere sammenlignet med sin moderlinje, LS-180, hvilket gør den til et mere praktisk valg til langtidsstudier. Den robuste produktion af CEA i disse celler, som er betydeligt højere end i andre etablerede linjer som HT-29, gør LS-147T til en vigtig model til at forstå tumormarkørdynamik og udforske målrettede terapier i kolorektal cancer.

Organism

Menneske

Tissue

Tarm

Disease

Adenokarcinom

Synonyms

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

Karakteristika

Age

58 år

Gender

Kvinde

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Epitel-lignende

Growth properties

Vedhæftende

LS174T-celler | 300392

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

Protein expression	Colon Antigen 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, mRNA-ekspression +
Antigen expression	HLA A2, B13, B50, blodtype 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	Yeeres, i nøgne mus
Reverse transcriptase	Negativ
Products	Carcinoembryonalt antigen (CEA) 1944 ng/106 celler i 10 dage, mucin, interleukin-10 (IL-10), interleukin-6 (IL-6)
Mutational profile	LS-174T-celler bærer en mutation i kodon 12 i Kras-genet: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)
Karyotype	45,x med et manglende x-kromosom, men ingen andre kromosomafvigelser

Håndtering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA

LS174T-celler | 300392

Dissociation Reagent Accutase

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, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Seeding density 5 til 8×10^4 cell^{er}/cm²

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

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 osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

LS174T-celler | 300392

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.

LS174T-celler | 300392

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*: '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