

## LS513-Zellen | 300457

## Allgemeine Informationen

## Description

Die LS513-Zelllinie ist ein gut charakterisiertes Modell für kolorektales Karzinom, das aus einer 1985 entnommenen Primärtumorbiopsie eines 63-jährigen kaukasischen männlichen Patienten stammt. Der Tumor wurde als Dukes-C-Mucin-sekretierendes Zökumkarzinom klassifiziert, das sich an der Bauhin-Klappe befand. LS513-Zellen sind von Natur aus adhärent und weisen eine Multidrug-Resistenz (MDR) auf, was sie zu einem wertvollen Modell für die Untersuchung von Arzneimittelresistenzmechanismen bei kolorektalem Karzinom macht. Diese Zellen zeigen eine 30-prozentige Koloniebildungseffizienz in Methylcellulose und sind in Nacktmäusen tumorigen, was ihre Verwendung in onkogenen Studien weiter bestätigt.

Auf genetischer Ebene weisen LS513-Zellen mehrere bemerkenswerte Merkmale auf. Sie sind positiv für das p53-Wildtyp-Onkogen und exprimieren das karzinoembryonale Antigen (CEA) auf etwa 50 % der Zellen. Darüber hinaus exprimieren LS513-Zellen Antigene des Haupthistokompatibilitätskomplexes (MHC) Klasse I, darunter HLA und Beta-2-Mikroglobulin, jedoch keine Antigene des MHC Klasse II (HLA-DR, DQ und DP). Die Zellen produzieren außerdem den transformierenden Wachstumsfaktor Beta 1 (TGF Beta-1) mit einer Rate von 83 pg pro  $10^6$  Zellen pro 24 Stunden. Bemerkenswert ist, dass TGF-beta-1 als Inhibitor der LS513-Zellproliferation wirkt, während TGF-beta-2 keinen signifikanten Einfluss auf ihr Wachstum hat. Im Vergleich zur LS1034-Zelllinie sind LS513-Zellen 100-mal weniger empfindlich gegenüber TGF-beta-1, was auf unterschiedliche Reaktionen auf Wachstumsfaktorsignale zwischen diesen beiden kolorektalen Karzinommodellen hinweist.

LS513-Zellen weisen ein einzigartiges Profil der Antigenexpression auf, mit einer starken Positivität für interzelluläre Adhäsionsmoleküle 1 (ICAM-1) und HLA-Klasse-I-Antigene. Besonders bemerkenswert ist das Fehlen der MHC-Klasse-II-Antigenexpression, da dies auf mögliche Immunumgehungsmechanismen hindeutet, die für das Fortschreiten und die Metastasierung von Darmkrebs relevant sein könnten. Diese Eigenschaften, zusammen mit ihrer Resistenz gegen mehrere Medikamente und ihrer Fähigkeit, Tumore in immungeschwächten Mäusen zu bilden, machen LS513-Zellen zu einem leistungsstarken Werkzeug für die Untersuchung der molekularen und zellulären Grundlagen von Darmkrebs, insbesondere im Zusammenhang mit Immuninteraktionen und Therapieresistenz.

**Organism** Menschen

**Tissue** Kolorektal

**Disease** Adenokarzinom

**Synonyms** LS513, LS 513

## Merkmale

**Age** 63 Jahre

**Gender** Männlich

**Ethnicity** Kaukasisch

## LS513-Zellen | 300457

**Morphology** Epithelähnlich

**Growth properties** Adhärent

## Regulatorische Daten

**Citation** LS513 (Cytion Katalognummer 300457)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1386

## Biomolekulare Daten

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

**Antigen expression** Karzinoembryonales Antigen (CEA), ICAM-1, HLA Klasse I positiv

**Tumorigenic** Ja, bildet Tumore in Nacktmäusen

**Products** Transformierender Wachstumsfaktor beta 1 (TGF beta-1, 83 pg pro 10 exp6 Zellen pro 24 Stunden)

**Karyotype** Es lassen sich zwei Stammlinien unterscheiden. Die Hauptlinie war in 65% der Zellen vertreten, mit einer modalen Chromosomenzahl von 51,xY und 3 Markern, M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3, und einer Monosomie 15. Die zweite Stammlinie hatte eine modale Chromosomenzahl von 52,xY und wies M2 und M3 sowie ein Isochromosom für den langen Arm von Chromosom 1 namens M4 auf. Eine Trisomie 5,7, eine Tetrasomie 13 und eine Monosomie 2 und 3 waren in allen analysierten Zellen vorhanden, die Linie wies keine Monosomie 15 auf.

## Handhabung

**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 Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion-Artikelnummer 820400a)

**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

**LS513-Zellen | 300457**

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
<b>Split ratio</b>	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3 bis 1:4
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ Zellen/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	Alle 3 Tage
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von $5 \times 10^4$ Zellen/cm <sup>2</sup> ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.
<b>Freeze medium</b>	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

## LS513-Zellen | 300457

### Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein  $37^{\circ}\text{C}$  warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei  $300 \times g$ , um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befeuchtete Atmosphäre.

### Flask Coating

Keine

### Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

**LS513-Zellen | 300457**

**Shipping Conditions**

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

**Storage Conditions**

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

**Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA**

**Sterility**

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

**STR-Profil**

- 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

**HLA-Allele**

- 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