

LS174T-Zellen | 300392

Allgemeine Informationen

Description

Die Zelllinie LS147T ist eine Variante von LS-180, die beide von einem Duke's Typ B Adenokarzinom des Dickdarms einer 58-jährigen weißen Patientin stammen. Die ursprüngliche LS-180-Linie wurde durch 10-monatige Kultivierung des zerkleinerten Tumorgewebes hergestellt. LS-147T zeichnet sich ebenso wie seine Elternlinie durch die Expression mehrerer Onkogene aus, darunter myc, myb, ras und fos, während sie für andere wie sis, abl und ros negativ ist. Diese Linie exprimiert auch hohe Mengen an carcinoembryonalem Antigen (CEA), Interleukin 6 (IL-6) und Interleukin 10 (IL-10), die wichtige Marker und potenzielle Ziele in der Darmkrebsforschung sind.

Diese Zellen weisen mehrere Schlüsselmerkmale von Kolonepithelzellen auf, darunter reichlich Mikrovilli und intrazytoplasmatische Muzinvakuolen, die typischerweise mit sekretorischen Zellen in der Kolonschleimhaut assoziiert werden. Elektronenmikroskopische Untersuchungen haben diese strukturellen Details bestätigt, was ihre Herkunft und ihren Differenzierungsstatus weiter untermauert. Wichtig ist, dass sich LS-147T-Zellen in immunodeprivierten Mäusen als tumorerzeugend erwiesen haben und bei subkutaner Inokulation in hohen Zelldichten durchweg Tumore erzeugten, was ihr malignes Potenzial bestätigt.

Darüber hinaus ist die LS-147T-Zelllinie besonders wertvoll für Studien, die sich mit den molekularen und immunologischen Aspekten des kolorektalen Karzinoms befassen. Es wurde berichtet, dass sich diese Linie im Vergleich zu ihrer Elternlinie LS-180 leichter subkultivieren lässt, was sie zu einer praktischeren Wahl für Langzeitstudien macht. Die robuste Produktion von CEA durch diese Zellen, die deutlich höher ist als die anderer etablierter Linien wie HT-29, macht LS-147T zu einem wichtigen Modell für das Verständnis der Dynamik von Tumormarkern und die Erforschung gezielter Therapien bei Darmkrebs.

Organism Menschen

Tissue Doppelpunkt

Disease Adenokarzinom

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

Merkmale

Age 58 Jahre

Gender Weiblich

Ethnicity Kaukasisch

Morphology Epithelähnlich

Growth properties Adhärent

LS174T-Zellen | 300392

Regulatorische Daten

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

Biomolekulare Daten

Protein expression	Kolon-Antigen 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, mRNA-Expression +
Antigen expression	HLA A2, B13, B50, Blutgruppe 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	Ja, in Nacktmäusen
Reverse transcriptase	Negativ
Products	Carcinoembryonales Antigen (CEA) 1944 ng/106 Zellen in 10 Tagen, Mucin, Interleukin-10 (IL-10), Interleukin-6 (IL-6)
Mutational profile	LS-174T-Zellen tragen eine Mutation im Codon 12 des Kras-Gens: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)
Karyotype	45,x mit einem fehlenden X-Chromosom, aber ohne andere Chromosomenanomalien

Handhabung

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820100a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA

LS174T-Zellen | 300392

Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	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.
Split ratio	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:2 bis 1:5
Seeding density	5 bis 8×10^4 Zellen/cm ²
Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche
Post-Thaw Recovery	Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5×10^4 Zellen/cm ² ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.
Freeze medium	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.

LS174T-Zellen | 300392

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°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°C , 5% 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.

LS174T-Zellen | 300392

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

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

LS174T-Zellen | 300392

HLA-Allele

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