Product sheet

Κύτταρα LS513 | 300457

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά LS513 είναι ένα καλά χαρακτηρισμένο μοντέλο καρκίνου του παχέος εντέρου που προέρχεται από βιοψία πρωτογενούς όγκου που ελήφθη το 1985 από έναν 63χρονο λευκό ασθενή. Ο όγκος ταξινομήθηκε ως καρκίνωμα του τυφλού εντέρου τύπου Dukes C που εκκρίνει βλεννίνη και βρίσκεται στη βαλβίδα Bauhin. Τα κύτταρα LS513 είναι προσκολλητικά και έχουν δείξει πολυφαρμακευτική αντοχή (MDR), γεγονός που τα καθιστά ένα πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη των μηχανισμών αντοχής στα φάρμακα στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Αυτά τα κύτταρα εμφανίζουν 30% αποτελεσματικότητα σχηματισμού αποικιών σε μεθυλοκυτταρίνη και είναι ογκογόνα σε γυμνά ποντίκια, επιβεβαιώνοντας περαιτέρω τη χρήση τους σε ογκογόνες μελέτες. Σε γενετικό επίπεδο, τα κύτταρα LS513 εκφράζουν διάφορα αξιοσημείωτα χαρακτηριστικά. Είναι θετικά για το ογκογονίδιο p53 άγριου τύπου και εκφράζουν καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA) σε περίπου 50% των κυττάρων. Επιπλέον, τα κύτταρα LS513 εκφράζουν αντιγόνα του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC) τύπου I, συμπεριλαμβανομένων των HLA και της βήτα 2 μικροσφαιρίνης, αλλά δεν διαθέτουν αντιγόνα MHC τύπου II (HLA-DR, DQ και DP). Τα κύτταρα παράγουν επίσης μετασχηματιστικό αυξητικό παράγοντα βήτα 1 (TGF βήτα-1) με ρυθμό 83 pg ανά 10^6 κύτταρα ανά 24 ώρες. Σημειωτέον ότι ο TGF βήτα-1 δρα ως αναστολέας της πολλαπλασιασμού των κυττάρων LS513, ενώ ο TGF βήτα-2 δεν έχει σημαντική επίδραση στην ανάπτυξή τους. Σε σύγκριση με την κυτταρική σειρά LS1034, τα κύτταρα LS513 είναι 100 φορές λιγότερο ευαίσθητα στον TGF βήτα-1, υποδηλώνοντας διαφορετικές αποκρίσεις στη σηματοδότηση του αυξητικού παράγοντα μεταξύ αυτών των δύο μοντέλων καρκίνου του παχέος εντέρου. Τα κύτταρα LS513 εμφανίζουν ένα μοναδικό προφίλ έκφρασης αντιγόνων, με ισχυρή θετικότητα για το μόριο ενδοκυτταρικής προσκόλλησης 1 (ICAM-1) και τα αντιγόνα HLA κλάσης I. Η απουσία έκφρασης αντιγόνου MHC κατηγορίας II είναι ιδιαίτερα αξιοσημείωτη, καθώς υποδηλώνει πιθανούς μηχανισμούς αποφυγής του ανοσοποιητικού συστήματος που θα μπορούσαν να σχετίζονται με την εξέλιξη και τη μετάσταση του καρκίνου του παχέος εντέρου. Αυτά τα χαρακτηριστικά, σε συνδυασμό με την αντοχή τους σε πολλαπλά φάρμακα και την ικανότητά τους να σχηματίζουν όγκους σε ποντίκια με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα, καθιστούν τα κύτταρα LS513 ένα ισχυρό εργαλείο για τη μελέτη των μοριακών και κυτταρικών βάσεων του καρκίνου του παχέος εντέρου, ειδικά στο πλαίσιο των ανοσολογικών αλληλεπιδράσεων και της θεραπευτικής αντοχής.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Κολοορθικό
Disease	Αδενοκαρκίνωμα
Synonyms	LS513, LS 513

Χαρακτηριστικά

Age	63 χρόνια
Gender	Άντρας

Κύτταρα LS513 | 300457

Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	LS513 (αριθμός καταλόγου Cytion 300457)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1386

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	CEA+ (50%), p53+
Antigen expression	Καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA), ICAM-1, HLA τάξης I θετικό
Tumorigenic	Ναι, σχηματίζει όγκους σε γυμνά ποντίκια
Products	Μετασχηματιστικός αυξητικός παράγοντας βήτα 1 (TGF βήτα-1, 83 pg ανά 10 exp6 κύτταρα ανά 24 ώρες)
Karyotype	Μπορούν να διακριθούν δύο γραμμές στελέχους. Η κύρια αντιπροσωπεύεται στο 65% των κυττάρων, με μέσο αριθμό 51,xY και 3 δείκτες, M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3 και μονοσωμία 15. Η δεύτερη βλαστική γραμμή είχε έναν πρότυπο αριθμό χρωμοσωμάτων 52,xY και παρουσίαζε τους δείκτες M2 και M3 καθώς και ένα ισοχρωμόσωμα για το μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 1 που ονομάζεται M4. Μια τρισωμία 5,7, μια τετρασωμία 13 και μια μονοσωμία 2 και 3 ήταν παρούσες σε όλα τα κύτταρα που αναλύθηκαν, η γραμμή δεν παρουσίαζε μονοσωμία 15.

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Κύτταρα LS513 | 300457

Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	1 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	Κάθε 3 ημέρες
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5 x 10^4 κύτταρα/cm^2 και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα LS513 | 300457

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα LS513 | 300457

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.
HLA αλληλόμορφα	**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