Product sheet

Κύτταρα LS174T | 300392

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά LS147T είναι παραλλαγή της LS-180, και οι δύο προέρχονται από αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου τύπου B του Duke σε 58χρονη λευκή ασθενή. Η αρχική σειρά LS-180 δημιουργήθηκε με καλλιέργεια του τεμαχισμένου ιστού του όγκου επί 10 μήνες. Η LS-147T, μαζί με τη μητρική της γραμμή, είναι αξιοσημείωτη για την έκφραση πολλαπλών ογκογονιδίων, συμπεριλαμβανομένων των myc, myb, ras και fos, ενώ είναι αρνητική για άλλα, όπως τα sis, abl και ros. Η γραμμή αυτή εκφράζει επίσης υψηλά επίπεδα καρκινοεμβρυϊκού αντιγόνου (CEA), ιντερλευκίνης 6 (IL-6) και ιντερλευκίνης 10 (IL-10), τα οποία αποτελούν σημαντικούς δείκτες και πιθανούς στόχους στην έρευνα για τον καρκίνο του παχέος εντέρου. Τα κύτταρα αυτά παρουσιάζουν αρκετά βασικά χαρακτηριστικά των επιθηλιακών κυττάρων του παχέος εντέρου, συμπεριλαμβανομένων των άφθονων microvilli και των ενδοκυτταροπλασματικών κενών βλεννογόνου, τα οποία είναι χαρακτηριστικά που συνήθως σχετίζονται με εκκριτικά κύτταρα στον βλεννογόνο του παχέος εντέρου. Μελέτες ηλεκτρονικής μικροσκοπίας επιβεβαίωσαν αυτές τις δομικές λεπτομέρειες, υποστηρίζοντας περαιτέρω την προέλευση και το καθεστώς διαφοροποίησής τους. Είναι σημαντικό ότι τα κύτταρα LS-147T αποδείχθηκαν καρκινικά σε ανοσοαπορροφημένα ποντίκια, παράγοντας σταθερά όγκους όταν εμβολιάζονται υποδόρια σε υψηλές πυκνότητες κυττάρων, επιβεβαιώνοντας έτσι το κακοήθες δυναμικό τους. Επιπλέον, η κυτταρική σειρά LS-147T είναι ιδιαίτερα πολύτιμη σε μελέτες που επικεντρώνονται στις μοριακές και ανοσολογικές πτυχές του καρκίνου του παχέος εντέρου. Έχει αναφερθεί ότι η εν λόγω σειρά υποκαλλιεργείται ευκολότερα σε σύγκριση με τη μητρική της σειρά, LS-180, καθιστώντας την πιο πρακτική επιλογή για μακροχρόνιες μελέτες. Η ισχυρή παραγωγή CEA από αυτά τα κύτταρα, η οποία είναι σημαντικά υψηλότερη από εκείνη άλλων καθιερωμένων σειρών όπως η HT-29, καθιστά την LS-147T ένα κρίσιμο μοντέλο για την κατανόηση της δυναμικής των καρκινικών δεικτών και τη διερεύνηση στοχευμένων θεραπειών στον καρκίνο του παχέος εντέρου.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Κόλον
Disease	Αδενοκαρκίνωμα
Synonyms	Ls174T, LS174t, Ls-174-T, LS-174-T, LS 174 T, LS174T, Ls-174T, LS 174T, LS-174, LS174

Χαρακτηριστικά

Age	58 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Επιθηλιοειδής

Κύτταρα LS174T | 300392

Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	Αντιγόνο του παχέος εντέρου 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, έκφραση mRNA +
Antigen expression	HLA A2, B13, B50, ομάδα αίματος 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	Ναι, σε γυμνά ποντίκια
Reverse transcriptase	Αρνητικό
Products	Καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA) 1944 ng/106 κύτταρα σε 10 ημέρες, βλεννίνη, ιντερλευκίνη-10 (IL-10), ιντερλευκίνη-6 (IL-6)
Mutational profile	Τα κύτταρα LS-174T φέρουν μετάλλαξη στο κωδικόνιο 12 του γονιδίου Kras: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)
Karyotype	45,x με έλλειψη ενός χρωμοσώματος x αλλά χωρίς άλλες χρωμοσωμικές ανωμαλίες

Χειρισμός

Κύτταρα LS174T | 300392

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA
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	5 έως 8 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
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 LS174T | 300392

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 LS174T | 300392

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***: '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