

LS180 rakud | 305823

Üldine teave

Description

LS180 on inimese käärsoole adenokartsinoomi rakuliin, mis on loodud täiskasvanud naissoost patsiendi esmase kasvaja põhjal, kellel oli mõõdukalt diferentseerunud käärsoole adenokartsinoom, mis oli metastaseerunud perikooli rasvkoesse. Rakud on morfoloogiliselt epiteliaalsed, ovaalse kuni hulknurkse kujuga ja läbimõõduga 20-40 µm. Neil on normaalsetele jämesoole limaskesta rakkudele iseloomulikud ultrastruktuurilised tunnused, sealhulgas rohked mikrovillid - mis on eriti silmatorkavad sekretoorilistes rakkudes - ja intratsütoplasmasiseste mukiinivakuolide olemasolu. Nendel rakkudel on neoplasia tunnused, sealhulgas suur kartsinoembrüonaalse antigeeni (CEA) tootmine ja võime moodustada kasvajaid nii hamstri põsepõskedes kui ka immuunpuudulikkusega hiirtel, mis viitab nende in vivo kasvajapotentsiaalile.

LS180 rakud olid tähelepanuväärsed oma erakordselt suure CEA tootmise poolest, eraldades ligikaudu 900 korda rohkem CEA-d raku kohta kasvukeskkonda ja kandes 30 korda rohkem CEA-d kui teised käärsoolevähi liinid, näiteks HT-29. See muudab LS180 väärtuslikuks mudeliks neoplastilise jämesoole epiteeli biokeemiliste, immunoloogiliste ja funktsionaalsete omaduste uurimiseks, eriti seoses CEA-ga seotud kasvaja markeritega. Rakkude karyotüübi määramisel on kindlaks tehtud, et nende kromosoomide komplekt on ebanormaalne ja vastab neoplastilisele transformatsioonile. Nende epiteeli identiteet ja kasvaja seotud tunnused muudavad need sobivaks kasutamiseks immunoloogilistes analüüsides, ravimite skriiningus ning kolorektaalvähi bioloogia ja ravivastuse uuringutes.

Lisaks on LS180 osa vähirakuliinide entsüklopeediast (CCLE), kus seda on põhjalikult iseloomustatud multioomilise profiilanalüüsi, sealhulgas proteoomika, transkriptoomika ja mutatsiooniandmete abil. LS180 on klassifitseeritud mikrosatelliitide ebastabiilse (MSI) rakuliinina, mis on fenotüüp, mis on seotud hüpermutatsioonilise genoomiga ja mis teadaolevalt mõjutab proteoomi korraldust ja terapeutilist haavatavust. LS180 proteoomiline analüüs näitas, et MSI rakuliinidel, sealhulgas LS180-l, esineb märkimisväärne muteerimise jälgimise ja translatsioonikontrollis osalevate valgukomplekside düsregulatsioon, mis annab ülevaate ravimitundlikkuse ja resistentsuse mehhanismidest. Proteoomilised andmed toetavad veelgi seda, et LS180 valkude ekspressiooni laialatuslik koostamine radade tasandil on lahutatud RNA ekspressioonist, rõhutades otseste valgu tasandi uuringute tähtsust.

Organism Inimene

Tissue Colon

Disease Adenokartsinoom

Synonyms LS-180, LS 180, kirurgia laboratoorium 180

Omadused

Age 58 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

LS180 rakud | 305823

Cell type Käärsoole epiteelirakk

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation LS180 (Cytioni katalooginumber 305823)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0397

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression Seroloogiliselt määratletud jämesoolevähi antigeen 3; Homo sapiens, ekspresseeritud HLA A2, B13, B50; veregrupp O

Isoenzymes ADA, 1 ES-D, 1 G6PD, B PEP-D, 1 PGD, A PGM1, 1 PGM3, 2

Tumorigenic Jah; Jah, alasti hiirtel

Mutational profile Mutatsioon: ACVR2A, Simple, p.Lys437Argfs*5 (c.1310delA), homosügootne, Mutatsioon, CTNNB1, Simple, p.Ser45Phe (c.134C>T), homosügootne, KRAS, Simple, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterosügootne. Mutatsioon, PIK3CA, Simple, p.His1047Arg (c.3140A>G), määramata Mutatsioon, TGFBR2, Simple, p.Lys128Serfs*35 (c.383delA), homosügootne; Mutatsioon, TP53

Karyotype Modaalarv = 45; vahemik = 42 kuni 47.

Töötlemine

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

LS180 rakud | 305823

Doubling time 72 tundi**Freeze medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialid jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialid kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialid ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

LS180 rakud | 305823

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.