

LS513 rakud | 300457

Üldine teave

Description

LS513 rakuliin on hästi iseloomustatud kolorektaalse kartsinoomi mudel, mis on saadud 1985. aastal 63-aastaselt valgenahalise meespatsiendilt võetud primaarse kasvaja biopsia proovist. Kasvaja klassifitseeriti Dukes' C mukiini eritava tsökumikartsinoomina, mis asus Bauhini klapis. LS513 rakud on oma olemuselt adhesiivsed ja on näidanud multiravimresistentsust (MDR), mis teeb neist väärtusliku mudeli kolorektaalse vähi ravimresistentsuse mehhanismide uurimiseks. Need rakud näitavad metüülselluloosis 30% koloonia moodustamise efektiivsust ja on tuumorigeensed alasti hiirtel, mis kinnitab veelgi nende kasutamist onkogeensetes uuringutes.

Geneetilisel tasandil väljendavad LS513 rakud mitmeid märkimisväärseid omadusi. Nad on positiivsed p53 loodusliku tüüpi onkogeeni suhtes ja väljendavad kartsinoembrüonaalset antigeeni (CEA) ligikaudu 50% rakkudes. Lisaks ekspresseerivad LS513 rakud peamisi histokompatibiliteedikompleksi (MHC) I klassi antigeene, sealhulgas HLA ja beeta 2 mikroglobuliini, kuid neil puuduvad MHC II klassi antigeenid (HLA-DR, DQ ja DP). Rakud toodavad ka transformatiivset kasvufaktorit beeta 1 (TGF beeta-1) kiirusega 83 pg 10⁶ raku kohta 24 tunni jooksul. Tähelepanuväärne on, et TGF beeta-1 toimib LS513 rakkude proliferatsiooni inhibiitorina, samas kui TGF beeta-2 ei avalda nende kasvule olulist mõju. Võrreldes LS1034 rakuliiniga on LS513 rakud 100 korda vähem tundlikud TGF beeta-1 suhtes, mis viitab erinevatele reaktsioonidele kasvufaktori signaalidele nende kahe kolorektaalse kartsinoomi mudeli vahel.

LS513 rakkudel on unikaalne antigeeni ekspressiooni profiil, mis on tugevalt positiivne intertsellulaarse adhesiivmolekuli 1 (ICAM-1) ja HLA klass I antigeenide suhtes. MHC klass II antigeeni ekspressiooni puudumine on eriti märkimisväärne, kuna see viitab potentsiaalsetele immuunsüsteemi vältimise mehhanismidele, mis võivad olla olulised kolorektaalse vähi progresseerumisel ja metastaaside tekkel. Need omadused, koos mitmete ravimite suhtes resistentsusega ja võimega moodustada kasvujaid immuunpuudulikkusega hiirtel, muudavad LS513 rakud võimsaks vahendiks kolorektaalse vähi molekulaarse ja rakulise aluse uurimisel, eriti immuunsüsteemi interaktsioonide ja ravimresistentsuse kontekstis.

Organism Inimene

Tissue Kolorektaalne

Disease Adenokartsinoom

Synonyms LS513, LS 513

Omadused

Age 63 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

LS513 rakud | 300457

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation LS513 (Cytioni katalooginumber 300457)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1386

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression CEA+ (50%), p53+

Antigen expression Kartsiiinoembüooniline antigeen (CEA), ICAM-1, HLA I klassi positiivne

Tumorigenic Jah, moodustab alasti hiirtel kasvajaid

Products Transformeeriv kasvufaktor beeta-1 (TGF beeta-1, 83 pg 10 eksp6 raku kohta 24 tunni jooksul)

Karyotype Võib eristada kahte tüveliini. Peamine oli esindatud 65% rakkudest, modaalarvuga 51,xY ja 3 markeriga, M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3 ja monosoomia 15. Teise tüveliini modaalne kromosoomiarv oli 52,xY ja sellel esinesid M2 ja M3 ning kromosoomi 1 pika haru isokromosoom M4. Trisoomia 5,7, tetrasoomia 13 ning monosoomia 2 ja 3 esinesid kõigis analüüsitud rakkudes, liinil ei esinenud monosoomiat 15.

Töötlemine

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

LS513 rakud | 300457

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 1×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal Iga 3 päeva tagant

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

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.

LS513 rakud | 300457

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial 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 viali 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 viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ 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.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

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.

**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.

LS513 rakud | 300457

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.

HLA alleles

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