

LS174T rakud | 300392

Üldine teave

Description

LS147T rakuliin on LS-180 variant, mis mõlemad on saadud 58-aastase valge naissoost patsiendi Duke'i B-tüüpi käärsoole adenokartsinoomist. Esialgne LS-180 liin loodi, kultiveerides peenestatud kasvajakude 10 kuud. LS-147T, nagu ka selle vanemliin, paistab silma mitme onkogeeni, sealhulgas myc, myb, ras ja fos ekspressiooni poolest, olles samas negatiivne teiste, nagu sis, abl ja ros, suhtes. See liin ekspresseerib ka kartsinoembrüoantigeeni (CEA), interleukiin 6 (IL-6) ja interleukiin 10 (IL-10), mis on olulised markerid ja potentsiaalsed sihtmärgid kolorektaalvähi uurimisel.

Nendel rakkudel on mitu põhilist jämesoole epiteelirakkude omadust, sealhulgas rohked mikrovillid ja intratsütoplasmaalsed mütsiinivakuolid, mis on tüüpiliselt seotud jämesoole limaskesta sekretooriliste rakkudega. Elektronmikroskoopiauringud on kinnitanud neid struktuurilisi üksikasju, mis toetab veelgi nende päritolu ja diferentseerumist. Oluline on see, et LS-147T rakud on immuunpuudulikkusega hiirtel näidanud, et nad on kasvajalised, tekitades järjekindlalt kasvajaid, kui neid vaktsineeritakse subkutaanselt suure rakutihedusega, kinnitades seega nende pahaloomulist potentsiaali.

Lisaks on LS-147T rakuliin eriti väärtuslik uuringutes, mis keskenduvad kolorektaalse vähi molekulaarsetele ja immunoloogilistele aspektidele. On teatatud, et seda liini on lihtsam subkultuurida võrreldes selle vanemliini LS-180-ga, mis muudab selle praktilisemaks valikuks pikaajaliste uuringute jaoks. Nende rakkude tugev CEA tootmine, mis on oluliselt suurem kui teistel väljakujunenud liinidel, nagu HT-29, muudab LS-147T kriitiliseks mudeliks kasvajamarkerite dünaamika mõistmiseks ja sihtotstarbeliste ravimeetodite uurimiseks kolorektaalvähi puhul.

Organism Inimene

Tissue Colon

Disease Adenokartsinoom

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

Omadused

Age 58 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Kinnipeetav

LS174T rakud | 300392

Regulatiivsed andmed

| | |
|-----------------------------|---|
| Citation | LS174T (Cytioni katalooginumber 300392) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_1384 |

Biomolekulaarsed andmed

| | |
|------------------------------|--|
| Protein expression | Colon Antigen 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, mRNA ekspressioon + |
| Antigen expression | HLA A2, B13, B50, veregrupp 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 | Jah, alasti hiirtel |
| Reverse transcriptase | Negatiivne |
| Products | Kartsinoembrüonaalne antigeen (CEA) 1944 ng/106 rakku 10 päeva jooksul, mukiin, interleukiin-10 (IL-10), interleukiin-6 (IL-6) |
| Mutational profile | LS-174T rakud kannavad mutatsiooni Kras'i geeni 12. koodonis: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp) |
| Karyotype | 45,x, kus üks x-kromosoom puudub, kuid ei ole muid kromosoomiaberratsioone |

Töötlemine

| | |
|-----------------------|---|
| Culture Medium | EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a) |
| Supplements | Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAaga |

LS174T rakud | 300392

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel 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 tseentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 5 kuni 8×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

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.

LS174T rakud | 300392

**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.

LS174T rakud | 300392

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*: '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