

LS513 Solut | 300457

Yleisiä tietoja

Description

LS513-solulinja on hyvin karakterisoitu kolorektaalisyövän malli, joka on peräisin vuonna 1985 63-vuotiaalta valkoihoiselta miespotilaalta otetusta primaarisen kasvaimen biopsiasta. Kasvain luokiteltiin Dukessin C-luokan musiinia erittäväksi umpisuolen syöväksi, joka sijaitsi Bauhinin venttiilissä. LS513-solut ovat luonteeltaan adheesiivisiä ja niillä on osoitettu olevan monilääkeresistenssi (MDR), mikä tekee niistä arvokkaan mallin kolorektaalisyövän lääkeresistenssimekanismien tutkimiseen. Nämä solut osoittavat 30 %:n kolonianmuodostustehokkuuden metyyliiselluloosassa ja ovat tuumorigeenisiiä alastomissa hiirissä, mikä vahvistaa niiden käyttöä onkogeenisissä tutkimuksissa.

Geneettisellä tasolla LS513-soluilla on useita merkittäviä ominaisuuksia. Ne ovat positiivisia p53-villityyppiselle onkogeeniille ja ilmentävät karsinoembryonaalista antigeeniä (CEA) noin 50 %:ssa soluista. Lisäksi LS513-solut ilmentävät päähistokompatibiliteettikompleksin (MHC) luokan I antigeenejä, mukaan lukien HLA ja beeta 2-mikroglobuliini, mutta niiltä puuttuu MHC-luokan II antigeenit (HLA-DR, DQ ja DP). Solut tuottavat myös transformoivaa kasvutekijää beeta 1 (TGF beeta-1) nopeudella 83 pg per 10⁶ solua per 24 tuntia. Erityisesti TGF-beeta-1 toimii LS513-solujen proliferaation estäjänä, kun taas TGF-beeta-2:lla ei ole merkittävää vaikutusta niiden kasvuun. Verrattuna LS1034-solulinjaan LS513-solut ovat 100-kertaisesti vähemmän herkkiä TGF-beeta-1:lle, mikä osoittaa erilaista vastetta kasvutekijän signaaliin näiden kahden kolorektaalisien karsinooman mallin välillä.

LS513-soluilla on ainutlaatuinen antigeenien ilmentymisprofiili, jossa on voimakas positiivisuus solujen välisen adheesiomolekyylin 1 (ICAM-1) ja HLA-luokan I antigeenien suhteen. MHC-luokan II antigeenien ilmentymisen puuttuminen on erityisen huomionarvoista, koska se viittaa mahdollisiin immuunivasteen kiertämismekanismeihin, jotka voivat olla merkityksellisiä kolorektaalisien syövän etenemisen ja etäpesäkkeiden muodostumisen kannalta. Nämä ominaisuudet, yhdessä niiden resistenssin kanssa useille lääkkeille ja niiden kyvyn muodostaa kasvaimia immuunipuutteisissa hiirissä, tekevät LS513-soluista tehokkaan työkalun kolorektaalisien syövän molekyyli- ja solutason mekaniismien tutkimiseen, erityisesti immuunivasteiden vuorovaikutuksen ja terapeuttisen resistenssin kontekstissa.

Organism Ihminen

Tissue Kolorektaali

Disease Adenokarsinooma

Synonyms LS513, LS 513

Ominaisuudet

Age 63 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Kaukasialainen

LS513 Solut | 300457

Morphology Epiteelin kaltainen

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation LS513 (Cytionin luettelonumero 300457)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1386

Biomolekyyli tiedot

Protein expression CEA+ (50 %), p53+

Antigen expression Karsinoembryoninen antigeeni (CEA), ICAM-1, HLA-luokan I positiivinen

Tumorigenic Kyllä, muodostaa kasvaimia alasti elävissä hiirissä

Products Transformoiva kasvutekijä beeta 1 (TGF beeta-1, 83 pg per 10 exp6-solua per 24 tuntia)

Karyotype Voidaan erottaa kaksi runkolinjaa. Päälinja oli edustettuna 65 prosentissa soluista, ja sen modaaliluku oli 51,xY ja siinä oli kolme merkkiainetta: M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3 ja monosomia 15. Toisen kantalinjan modaalin kromosomiluku oli 52,xY, ja siinä esiintyivät M2 ja M3 sekä kromosomin 1 pitkän varren isokromosomi M4. Trisomia 5,7, tetrasomia 13 ja monosomia 2 ja 3 esiintyivät kaikissa analysoiduissa soluissa, linjalla ei ollut monosomia 15.

Käsittely

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820400a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent Accutase

LS513 Solut | 300457

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Seeding density 1×10^4 solua/cm²

Fluid renewal 3 päivän välein

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

LS513 Solut | 300457

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta $300 \times g$:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LS513 Solut | 300457

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välvaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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