

LS174T-kennot | 300392

Yleisiä tietoja

Description

LS147T-solulinja on LS-180:n muunnos, ja molemmat solulinjat ovat peräisin 58-vuotiaan valkoihoisen naispotilaan paksusuolen B-tyyppin adenokarsinoomasta. Alkuperäinen LS-180-solulinja perustettiin viljelemällä jauhettua kasvainkudosta 10 kuukauden ajan. LS-147T:n ja sen kantalinjan erityispiirteinä on useiden onkogeneenien, kuten myc, myb, ras ja fos, ilmentyminen, kun taas muiden, kuten sis, abl ja ros, ilmentyminen on negatiivista. Tämä linja ilmentää myös runsaasti karsinoembryonista antigeenia (CEA), interleukiini 6:ta (IL-6) ja interleukiini 10:tä (IL-10), jotka ovat tärkeitä merkkiaineita ja potentiaalisia kohteita paksusuolisyövän tutkimuksessa.

Näillä soluilla on useita paksusuolen epiteelisolujen keskeisiä piirteitä, kuten runsaasti mikrovilloja ja sytoplasmian sisäisiä mukiinijohjoita, jotka tyypillisesti liittyvät paksusuolen limakalvon erittäviin soluihin. Elektronimikroskooppitutkimukset ovat vahvistaneet nämä rakenteelliset yksityiskohdat, mikä tukee entisestään niiden alkuperää ja erilaistumista. Tärkeää on, että LS-147T-solujen on osoitettu olevan kasvaimia aiheuttavia immuunipuutteilla hiirillä, ja ne tuottavat jatkuvasti kasvaimia, kun niitä inokuloidaan ihon alle suurilla solutiheyksillä, mikä vahvistaa niiden pahanlaatuisen potentiaalin.

Lisäksi LS-147T-solulinja on erityisen arvokas tutkimuksissa, joissa keskitytään kolorektaalisyövän molekulaarisiin ja immunologisiin näkökohtiin. On raportoitu, että tätä linjaa on helpompi subkulturoida verrattuna sen emolinjaan LS-180:een, mikä tekee siitä käytännöllisemmän valinnan pitkäaikaistutkimuksiin. Näiden solujen voimakas CEA-tuotanto, joka on huomattavasti suurempi kuin muilla vakiintuneilla linjoilla, kuten HT-29:llä, tekee LS-147T:stä kriittisen mallin kasvainmerkkien dynamiikan ymmärtämisessä ja paksusuolen ja peräsuolen syövän kohdennettujen hoitojen tutkimisessa.

Organism

Ihminen

Tissue

Paksusuoli

Disease

Adenokarsinooma

Synonyms

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

Ominaisuudet

Age

58 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Kaukasialainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

Growth properties

Tarttuva

LS174T-kennot | 300392

Säätelytiedot

Citation	LS174T (Cytionin luettelonumero 300392)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1384

Biomolekyylitiedot

Protein expression	Paksusuolen antigeeni 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, mRNA-ekspressio +
Antigen expression	HLA A2, B13, B50, veriryhmä 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	Kyllä, alastomilla hiirillä
Reverse transcriptase	Negatiivinen
Products	Karsinoembryoninen antigeeni (CEA) 1944 ng/106 solua 10 päivässä, mukiini, interleukiini-10 (IL-10), interleukiini-6 (IL-6)
Mutational profile	LS-174T-soluissa on mutaatio Kras-geenin koodonissa 12: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)
Karyotype	45,x, jossa yksi x-kromosomi puuttuu, mutta ei muita kromosomipoikkeavuuksia

Käsittely

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla

LS174T-kennot | 300392

Dissociation Reagent Accutase

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 5–8 x 10⁴ solua/cm²

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10⁴ solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

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

LS174T-kennot | 300392

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä 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 x 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 tarttuvia, 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 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LS174T-kennot | 300392

Storage Conditions

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