

Cellules LS513 | 300457

Informations générales

Description

La lignée cellulaire LS513 est un modèle de carcinome colorectal bien caractérisé, dérivé d'une biopsie tumorale primaire prélevée en 1985 sur un patient caucasien de 63 ans. La tumeur a été classée comme un carcinome cæcal sécrétant de la mucine de type C selon la classification de Dukes, situé au niveau de la valve de Bauhin. Les cellules LS513 sont de nature adhérente et ont démontré une multirésistance aux médicaments (MDR), ce qui en fait un modèle précieux pour l'étude des mécanismes de résistance aux médicaments dans le cancer colorectal. Ces cellules présentent une efficacité de formation de colonies de 30 % dans la méthylcellulose et sont tumorigènes chez les souris nues, ce qui valide davantage leur utilisation dans les études oncogéniques.

Au niveau génétique, les cellules LS513 présentent plusieurs caractéristiques notables. Elles sont positives pour l'oncogène p53 de type sauvage et expriment l'antigène carcino-embryonnaire (CEA) sur environ 50 % des cellules. De plus, les cellules LS513 expriment les antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I, notamment HLA et bêta 2 microglobuline, mais ne possèdent pas les antigènes CMH de classe II (HLA-DR, DQ et DP). Les cellules produisent également le facteur de croissance transformant bêta 1 (TGF bêta-1) à un taux de 83 pg pour 10^6 cellules par 24 heures. Il convient de noter que le TGF bêta-1 agit comme un inhibiteur de la prolifération des cellules LS513, tandis que le TGF bêta-2 n'a pas d'effet significatif sur leur croissance. Par rapport à la lignée cellulaire LS1034, les cellules LS513 sont 100 fois moins sensibles au TGF bêta-1, ce qui indique des réponses distinctes à la signalisation des facteurs de croissance entre ces deux modèles de carcinome colorectal.

Les cellules LS513 présentent un profil unique d'expression antigénique, avec une forte positivité pour la molécule d'adhésion intercellulaire 1 (ICAM-1) et les antigènes HLA de classe I. L'absence d'expression de l'antigène MHC de classe II est particulièrement remarquable, car elle suggère l'existence de mécanismes potentiels d'évasion immunitaire qui pourraient être pertinents pour la progression et les métastases du cancer colorectal. Ces caractéristiques, associées à leur résistance à plusieurs médicaments et à leur capacité à former des tumeurs chez des souris immunodéprimées, font des cellules LS513 un outil puissant pour étudier les fondements moléculaires et cellulaires du cancer colorectal, en particulier dans le contexte des interactions immunitaires et de la résistance thérapeutique.

Organism	Humain
Tissue	Colorectal
Disease	Adénocarcinome
Synonyms	LS513, LS 513

Caractéristiques

Age	63 ans
Gender	Homme
Ethnicity	Caucasien

Cellules LS513 | 300457

Morphology De type épithélial

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Citation LS513 (numéro de catalogue Cytion 300457)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1386

Données biomoléculaires

Protein expression CEA+ (50 %), p53+

Antigen expression Antigène carcino-embryonnaire (CEA), ICAM-1, HLA classe I positif

Tumorigenic Oui, forme des tumeurs chez les souris nude

Products Facteur de croissance transformant bêta 1 (TGF bêta-1, 83 pg par 10 cellules exp6 par 24 heures)

Karyotype Deux lignées peuvent être distinguées. La principale était représentée dans 65% des cellules, avec un nombre modal de 51,xY et 3 marqueurs, M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3, et une monosomie 15. La deuxième lignée souche avait un numéro chromosomique modal de 52,xY et présentait M2 et M3 plus un isochromosome pour le bras long du chromosome 1 appelé M4. Une trisomie 5,7, une tétrasomie 13 et une monosomie 2 et 3 étaient présentes dans toutes les cellules analysées, la lignée ne présentait pas de monosomie 15.

Manipulation

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w : 3.1 g/L Glucose, w : 2.5 mM L-Glutamine, w : 15 mM HEPES, w : 0.5 mM Sodium pyruvate, w : 1.2 g/L NaHCO3 (numéro d'article Cytion 820400a)

Supplements Compléter le milieu avec 10% de FBS

Cellules LS513 | 300457

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Split ratio Un rapport de 1:3 à 1:4 est recommandé

Seeding density 1×10^4 cellules/cm²

Fluid renewal Tous les 3 jours

Post-Thaw Recovery Après décongélation, ensemer les cellules à raison de 5×10^4 cellules/cm² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules LS513 | 300457

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules LS513 | 300457

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil STR

CSF1PO: 10
D13S317: 9,10
D16S539: 12,13
D5S818: 11
D7S820: 8,11
TH01: 8
TPOX: 8
vWA: 16,17
D3S1358: 15
D21S11: 30
D18S51: 12,18
Penta E: 5,18
Penta D: 9,14
D8S1179: 13
FGA: 19,21

Allèles HLA

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