

Cellules LS174T | 300392

Informations générales

Description

La lignée cellulaire LS147T est une variante de la lignée LS-180, toutes deux dérivées d'un adénocarcinome du côlon de type B de Duke chez une femme blanche de 58 ans. La lignée LS-180 originale a été établie en cultivant le tissu tumoral haché pendant 10 mois. LS-147T, tout comme sa lignée mère, se distingue par l'expression de plusieurs oncogènes, notamment myc, myb, ras et fos, alors qu'elle est négative pour d'autres comme sis, abl et ros. Cette lignée exprime également des niveaux élevés d'antigène carcinoembryonnaire (CEA), d'interleukine 6 (IL-6) et d'interleukine 10 (IL-10), qui sont des marqueurs importants et des cibles potentielles dans la recherche sur le cancer colorectal.

Ces cellules présentent plusieurs caractéristiques clés des cellules épithéliales coliques, notamment des microvillosités abondantes et des vacuoles de mucine intracytoplasmiques, qui sont des caractéristiques typiquement associées aux cellules sécrétoires de la muqueuse colique. Des études en microscopie électronique ont confirmé ces détails structurels, ce qui confirme leur origine et leur statut de différenciation. Il est important de noter que les cellules LS-147T se sont révélées tumorigènes chez des souris immunodéprimées, produisant systématiquement des tumeurs lorsqu'elles sont inoculées par voie sous-cutanée à des densités cellulaires élevées, ce qui confirme leur potentiel malin.

En outre, la lignée cellulaire LS-147T est particulièrement précieuse pour les études portant sur les aspects moléculaires et immunologiques du cancer colorectal. Il a été rapporté que cette lignée est plus facile à sous-cultiver que sa lignée mère, LS-180, ce qui en fait un choix plus pratique pour les études à long terme. La forte production de CEA par ces cellules, qui est significativement plus élevée que celle d'autres lignées établies comme HT-29, fait de LS-147T un modèle essentiel pour comprendre la dynamique des marqueurs tumoraux et explorer les thérapies ciblées dans le cancer colorectal.

Organism Humain

Tissue Colon

Disease Adénocarcinome

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

Caractéristiques

Age 58 ans

Gender Femme

Ethnicity Caucasien

Morphology De type épithélial

Cellules LS174T | 300392

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Citation LS174T (numéro de catalogue Cytion 300392)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1384

Données biomoléculaires

Protein expression Colon Antigen 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, expression de l'ARNm +

Antigen expression HLA A2, B13, B50, groupe sanguin 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 Oui, sur des souris nues

Reverse transcriptase Négatif

Products Antigène carcinoembryonnaire (CEA) 1944 ng/106 cellules en 10 jours, mucine, interleukine-10 (IL-10), interleukine-6 (IL-6)

Mutational profile Les cellules LS-174T sont porteuses d'une mutation dans le codon 12 du gène Kras : GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)

Karyotype 45,x avec un chromosome x manquant mais sans autres aberrations chromosomiques

Manipulation

Cellules LS174T | 300392

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w : 2 mM L-Glutamine, w : 2.2 g/L NaHCO ₃ , w : EBSS (numéro d'article Cytion 820100a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10 % de FBS et 1 % de NEAA
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 1:2 à 1:5 est recommandé
Seeding density	5 à 8 x 10 ⁴ cellules/cm ²
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemer les cellules à raison de 5 x 10 ⁴ cellules/cm ² 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 LS174T | 300392

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 $300 \times g$ 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 continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , 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 LS174T | 300392

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

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 10,14
D13S317: 10,11
D16S539: 11,13
D5S818: 11,15
D7S820: 10.3,11
TH01: 6,7
TPOX: 8,9
vWA: 15,17,18,19
D3S1358: 15,17
D21S11: 29,30,31
D18S51: 11,13
Penta E: 15,16
Penta D: 10
D8S1179: 11,12,16
FGA: 21,22
D1S1656: 12,13,14,18.3,19.3
D6S1043: 12,13,14
D2S1338: 18,22
D12S391: 18,19,20
D19S433: 13,14,15

Cellules LS174T | 300392

Allèles HLA

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