

LS180 cellák | 305823

Általános információk

Description

Az LS180 egy humán vastagbél adenokarcinóma-sejtvonal, amelyet egy felnőtt nőbeteg, mérsékelten jól differenciált vastagbél adenokarcinómában szenvedő, a perikolikus zsírszövetbe áttétet adó primer tumorából hoztak létre. A sejtek epithelialis morfológiájúak, ovális vagy poligonális alakúak, átmérőjük 20 és 40 µm között mozog. A normál vastagbélnyálkahártya sejteire jellemző ultrastrukturális jellemzőket mutatnak, beleértve a bőséges mikrovillákat - különösen a szekréciós sejtekben kiemelkedő - és az intracitoplazmatikus mucin-vakuolumok jelenlétét. Ezek a sejtek a neoplázia jellemzőit mutatják, beleértve a magas szintű karcinoembrionális antigén (CEA) termelést és a tumorképződés képességét mind hörcsögpofa tasakokban, mind immunhiányos egerekben, ami in vivo tumorigén potenciáljukra utal.

Az LS180 sejtek kiemelkedően magas CEA-termelésükkel tűntek ki: sejtenként körülbelül 900-szor több CEA-t bocsátottak ki a táptalajba, és 30-szor több CEA-t hordoztak a sejtekhez kapcsolódóan, mint más vastagbélrákos sejtvonalak, mint például a HT-29. Ez teszi az LS180-at értékes modellt a daganatos vastagbélhám biokémiai, immunológiai és funkcionális tulajdonságainak tanulmányozására, különösen a CEA-asszociált tumormarkerek vonatkozásában. A sejteket kariotipizálták, és megerősítették, hogy rendellenes kromoszóma-kompozíciót mutatnak, ami megfelel a neoplasztikus transzformációnak. Epithelialis identitásuk és tumorasszociált tulajdonságaik alkalmassá teszik őket immunológiai vizsgálatokban, gyógyszerészűrésben, valamint a vastagbélrák biológiájának és terápiás válaszána tanulmányozására.

Emellett az LS180 a Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE) része, ahol mélyrehatóan jellemezték a proteomikai, transzkriptomikai és mutációs adatokat is tartalmazó multi-omikai profilalkotás révén. Az LS180 mikroszatellita instabil (MSI) sejtvonalnak minősül, amely fenotípus hipermutált genommal jár együtt, és ismert, hogy befolyásolja a proteom szerveződését és a terápiás sebezhetőséget. Az LS180 proteomikai elemzése feltárta, hogy az MSI-sejtvonalak, köztük az LS180 is, a mutációfelügyeletben és a transzlációs kontrollban részt vevő fehérjekomplexek jelentős diszregulációját mutatják, ami betekintést nyújt a gyógyszerérzékenység és -rezisztencia mechanizmusába. A proteomikai adatok továbbá alátámasztják, hogy az LS180-ban a fehérjeexpresszió nagyfokú, útvonal-szintű koordinációja független az RNS-expressziótól, ami aláhúzza a közvetlen fehérjeszintű vizsgálatok fontosságát.

Organism Emberi

Tissue Vastagbél

Disease Adenokarcinóma

Synonyms LS-180, LS 180, Sebészeti laboratórium 180

Jellemzők

Age 58 év

Gender Női

Ethnicity Kaukázusi

LS180 cellák | 305823

Cell type Vastagbél epithelialis sejtje

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation LS180 (Cytion katalógusszám 305823)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0397

Biomolekuláris adatok

Antigen expression Szerológiailag meghatározott vastagbélrák-antigén 3; Homo sapiens, HLA A2, B13, B50 kifejeződése; O vércsoport

Isoenzymes ADA, 1 ES-D, 1 G6PD, B PEP-D, 1 PGD, A PGM1, 1 PGM3, 2

Tumorigenic Igen; Igen, meztelen egereken

Mutational profile Mutáció: ACVR2A, Simple, p.Lys437Argfs*5 (c.1310delA), homozigóta, Mutáció, CTNNB1, Simple, p.Ser45Phe (c.134C>T), homozigóta, KRAS, Simple, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterozigóta. Mutáció, PIK3CA, Simple, p.His1047Arg (c.3140A>G), Nem meghatározott Mutáció, TGFBR2, Simple, p.Lys128Serfs*35 (c.383delA), homozigóta; Mutáció, TP53

Karyotype Modális szám = 45; tartomány = 42-47.

A kezelése

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

LS180 cellák | 305823

Doubling time 72 óra**Freeze medium**

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítjük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.**Shipping Conditions**

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

LS180 cellák | 305823

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.