

LS513 sejtek | 300457

Általános információk

Description

Az LS513 sejtvonal egy jól jellemzett kolorektális karcinóma modell, amely egy 63 éves kaukázusi férfi betegől 1985-ben vett primer tumorbiopszia alapján lett létrehozva. A tumor Dukes C-típusú, mucint szekretáló cecalis karcinómának lett besorolva, amely a Bauhin-szelepen helyezkedett el. Az LS513 sejtek természetüknél fogva adhézívek és több gyógyszerrel szembeni rezisztenciát (MDR) mutatnak, ami értékes modellté teszi őket a kolorektális rák gyógyszerrezisztencia mechanizmusainak tanulmányozásában. Ezek a sejtek 30%-os kolóniaalkotó hatékonyságot mutatnak metilcellulózban és tumorigenikusak meztelen egerekben, ami tovább erősíti alkalmazásuk érvényességét onkogén tanulmányokban.

Genetikai szinten az LS513 sejtek több figyelemre méltó tulajdonságot mutatnak. Pozitívak a p53 vad típusú onkogénre, és a sejtek körülbelül 50%-a expresszálja a karcinoembrionális antigént (CEA). Ezenkívül az LS513 sejtek expresszálják a fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) I. osztályú antigéneket, beleértve a HLA-t és a béta-2 mikroglobulint, de nem rendelkeznek MHC II. osztályú antigénnel (HLA-DR, DQ és DP). A sejtek 24 óránként 10^6 sejtneként 83 pg transzformáló növekedési faktor béta-1-et (TGF béta-1) termelnek. Érdemes megjegyezni, hogy a TGF béta-1 gátolja az LS513 sejtek szaporodását, míg a TGF béta-2 nincs jelentős hatással a növekedésükre. Az LS1034 sejtvonalhoz képest az LS513 sejtek 100-szor kevésbé érzékenyek a TGF béta-1-re, ami azt jelzi, hogy a két kolorektális karcinóma modell között eltérő a növekedési faktorok jelátvitelére adott válasz.

Az LS513 sejtek egyedülálló antigén expressziós profilt mutatnak, erős pozitívítással az intercelluláris adhéziós molekula 1 (ICAM-1) és a HLA I. osztályú antigének tekintetében. Különösen figyelemre méltó az MHC II. osztályú antigének expressziójának hiánya, mivel ez olyan potenciális immunelkerülési mechanizmusokra utal, amelyek relevánsak lehetnek a kolorektális rák progressziójában és metasztázisában. Ezek a tulajdonságok, valamint a többféle gyógyszerrel szembeni rezisztenciájuk és immunhiányos egerekben tumorokat képező képességük miatt az LS513 sejtek hatékony eszközök a kolorektális rák molekuláris és sejtes alapjainak tanulmányozásához, különösen az immuninterakciók és a terápiás rezisztencia kontextusában.

Organism Emberi

Tissue Colorectális

Disease Adenokarcinóma

Synonyms LS513, LS 513

Jellemzők

Age 63 év

Gender Férfi

Ethnicity Kaukázusi

LS513 sejtek | 300457

Morphology Epithelszerű

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation LS513 (Cytion katalógusszám 300457)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1386

Biomolekuláris adatok

Protein expression CEA+ (50%), p53+

Antigen expression Carcinoembryonális antigén (CEA), ICAM-1, HLA I. osztály pozitív

Tumorigenic Igen, daganatokat képez meztelen egerekben

Products Transzformáló növekedési faktor béta-1 (TGF béta-1, 83 pg per 10 exp6 sejt per 24 óra)

Karyotype Két szárvonal különböztethető meg. A fővonal a sejtek 65%-ában képviseltette magát, 51,xY modális számmal és 3 markerrel, M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3 és egy 15-ös monoszómia. A második törzsvonal 52,xY modális kromoszómaszámmal rendelkezett, és M2 és M3, valamint az 1. kromoszóma hosszú karjának M4 nevű izokromoszómáját mutatta. Az 5,7-es triszómia, a 13-as tetraszómia, valamint a 2-es és 3-as monoszómia minden elemzett sejtben jelen volt, a vonal nem mutatott 15-ös monoszómiát.

A kezelése

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion 820400a cikkszám)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

LS513 sejtek | 300457

Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	1×10^4 sejt/cm ²
Fluid renewal	3 naponta
Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm ² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.
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.

LS513 sejtek | 300457

**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 °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 °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 fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót 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 sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

LS513 sejtek | 300457

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.

HLA allélok

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