

LS174T cellák | 300392

Általános információk

Description

Az LS147T sejtvonal az LS-180 egy változata, mindkettő egy 58 éves fehér nőbeteg B típusú Duke-féle vastagbél adenokarcinómájából származik. Az eredeti LS-180-as vonalat a darált tumorszövet 10 hónapos tenyésztésével hozták létre. Az LS-147T, a szülővonalával együtt, több onkogén, köztük a myc, myb, ras és fos expressziójával tűnik ki, míg másokra, mint a sis, abl és ros, negatív. Ez a vonal magas szinten expresszálja a karcinoembryonális antigént (CEA), az interleukin 6 (IL-6) és az interleukin 10 (IL-10), amelyek fontos markerek és potenciális célpontok a vastagbélrák kutatásában.

Ezek a sejtek a vastagbél epitelsejtek számos kulcsfontosságú jellemzőjét mutatják, beleértve a bőséges mikrovillákat és az intracitoplazmatikus mucin-vakuolumokat, amelyek jellemzően a vastagbél nyálkahártyájának szekréciós sejtjeihez társított jellemzők. Elektronmikroszkópos vizsgálatok megerősítették ezeket a szerkezeti részleteket, ami tovább erősíti eredetüket és differenciálódási státuszukat. Fontos, hogy az LS-147T sejtek immunhiányos egerekben tumorogénnek bizonyultak, és nagy sejtsűrűségű szubkultán beoltáskor következetesen tumorokat termeltek, ami megerősíti rosszindulatú potenciáljukat.

Az LS-147T sejtvonal továbbá különösen értékes a vastagbélrák molekuláris és immunológiai aspektusait vizsgáló vizsgálatokban. Jelentések szerint ez a vonal könnyebben szubkultúrázható, mint az LS-180-as szülővonal, így praktikusabb választás a hosszú távú vizsgálatokhoz. A CEA e sejtek általi erőteljes termelése, amely jelentősen magasabb, mint más bevált vonalaké, például a HT-29-é, az LS-147T-t kritikus modellé teszi a tumormarkerek dinamikájának megértéséhez és a vastagbélrák célzott terápiáinak feltárásához.

Organism

Emberi

Tissue

Vastagbél

Disease

Adenokarcinóma

Synonyms

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

Jellemzők

Age

58 év

Gender

Női

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Epithelszerű

Growth properties

Adherent

LS174T cellák | 300392

Szabályozási adatok

Citation	LS174T (Cytion katalógusszám: 300392)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1384

Biomolekuláris adatok

Protein expression	Colon Antigen 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, mRNS expresszió +
Antigen expression	HLA A2, B13, B50, O vércsoport
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 -, src -
Tumorigenic	Igen, meztelen egerekben
Reverse transcriptase	Negatív
Products	Karcinoembrionális antigén (CEA) 1944 ng/106 sejt 10 nap alatt, mucin, interleukin-10 (IL-10), interleukin-6 (IL-6)
Mutational profile	Az LS-174T sejtek mutációt hordoznak a Kras gén 12-es kodonjában: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)
Karyotype	45,x egy x kromoszóma hiányzik, de nincs más kromoszóma-rendellenesség

A kezelése

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)
Supplements	A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni

LS174T cellák | 300392

Dissociation Reagent Accutase

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 5–8 x 10⁴ sejt/cm²

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Post-Thaw Recovery Felolvasztás után helyezze a sejteket 5 x 10⁴ sejt/cm² 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.

LS174T cellák | 300392

**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 sejtkölcsönhatás 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.

LS174T cellák | 300392

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*: '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