

Celle LS513 | 300457

Informazioni generali

Description

La linea cellulare LS513 è un modello ben caratterizzato di carcinoma coloretale derivato da una biopsia di tumore primario prelevata nel 1985 da un paziente maschio caucasico di 63 anni. Il tumore è stato classificato come carcinoma cecale secernente mucina di tipo C secondo la classificazione di Dukes, localizzato nella valvola di Bauhin. Le cellule LS513 sono di natura aderente e hanno dimostrato resistenza multipla ai farmaci (MDR), rendendole un modello prezioso per lo studio dei meccanismi di resistenza ai farmaci nel cancro coloretale. Queste cellule mostrano un'efficienza di formazione di colonie del 30% nella metilcellulosa e sono tumorigeniche nei topi nudi, convalidando ulteriormente il loro utilizzo negli studi oncogenici.

A livello genetico, le cellule LS513 esprimono diverse caratteristiche degne di nota. Sono positive per l'oncogene p53 wild-type ed esprimono l'antigene carcinoembrionario (CEA) su circa il 50% delle cellule. Inoltre, le cellule LS513 esprimono antigeni del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) di classe I, tra cui HLA e beta 2 microglobulina, ma sono prive di antigeni MHC di classe II (HLA-DR, DQ e DP). Le cellule producono anche il fattore di crescita trasformante beta 1 (TGF beta-1) ad un tasso di 83 pg per 10^6 cellule ogni 24 ore. In particolare, il TGF beta-1 agisce come inibitore della proliferazione delle cellule LS513, mentre il TGF beta-2 non ha alcun effetto significativo sulla loro crescita. Rispetto alla linea cellulare LS1034, le cellule LS513 sono 100 volte meno sensibili al TGF beta-1, indicando risposte distinte alla segnalazione del fattore di crescita tra questi due modelli di carcinoma coloretale.

Le cellule LS513 mostrano un profilo unico di espressione antigenica, con forte positività per la molecola di adesione intercellulare 1 (ICAM-1) e gli antigeni HLA di classe I. La mancanza di espressione dell'antigene MHC di classe II è particolarmente degna di nota, poiché suggerisce potenziali meccanismi di evasione immunitaria che potrebbero essere rilevanti per la progressione e la metastasi del cancro coloretale. Queste caratteristiche, insieme alla loro resistenza a più farmaci e alla loro capacità di formare tumori in topi immunocompromessi, rendono le cellule LS513 uno strumento potente per lo studio delle basi molecolari e cellulari del cancro coloretale, in particolare nel contesto delle interazioni immunitarie e della resistenza terapeutica.

Organism Umano

Tissue Coloretale

Disease Adenocarcinoma

Synonyms LS513, LS 513

Caratteristiche

Age 63 anni

Gender Uomo

Ethnicity Caucasico

Celle LS513 | 300457

Morphology Simile all'epitelio

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation LS513 (numero di catalogo Cytion 300457)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1386

Dati biomolecolari

Protein expression CEA+ (50%), p53+

Antigen expression Antigene carcinoembrionale (CEA), ICAM-1, HLA classe I positivo

Tumorigenic Sì, forma tumori in topi nudi

Products Fattore di crescita trasformante beta 1 (TGF beta-1, 83 pg per 10 cellule exp6 per 24 ore)

Karyotype Si possono distinguere due linee staminali. La principale era rappresentata nel 65% delle cellule, con un numero modale di 51,xY e 3 marcatori, M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3, e una monosomia 15. La seconda linea staminale aveva un numero modale di cromosomi di 52,xY e presentava M2 e M3 più un isocromosoma per il braccio lungo del cromosoma 1 denominato M4. La seconda linea staminale aveva un numero cromosomico modale di 52,xY e presentava M2 e M3 più un isocromosoma per il braccio lungo del cromosoma 1 chiamato M4. Una trisomia 5,7, una tetrasomia 13 e una monosomia 2 e 3 erano presenti in tutte le cellule analizzate.

Manipolazione

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 2,5 mM di L-Glutammina, w: 15 mM di HEPES, w: 0,5 mM di Sodio piruvato, w: 1,2 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820400a)

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Celle LS513 | 300457

Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	Si raccomanda un rapporto da 1:3 a 1:4
Seeding density	1×10^4 cellule/cm ²
Fluid renewal	Ogni 3 giorni
Post-Thaw Recovery	Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm ² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Celle LS513 | 300457

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Celle LS513 | 300457

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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

Alleli 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