

## Celle LS174T | 300392

## Informazioni generali

## Description

La linea cellulare LS147T è una variante della LS-180, entrambe derivate da un adenocarcinoma di Duke di tipo B del colon in un paziente bianco di 58 anni. La linea originale LS-180 è stata creata mettendo in coltura il tessuto tumorale tritato per 10 mesi. LS-147T, come la linea madre, si distingue per l'espressione di diversi oncogeni, tra cui myc, myb, ras e fos, mentre è negativa per altri come sis, abl e ros. Questa linea esprime anche alti livelli di antigene carcinoembrionale (CEA), interleuchina 6 (IL-6) e interleuchina 10 (IL-10), importanti marcatori e potenziali bersagli nella ricerca sul cancro coloretale.

Queste cellule presentano diverse caratteristiche chiave delle cellule epiteliali del colon, tra cui abbondanti microvilli e vacuoli mucinici intracitoplasmatici, caratteristiche tipicamente associate alle cellule secretorie della mucosa del colon. Studi di microscopia elettronica hanno confermato questi dettagli strutturali, a ulteriore sostegno della loro origine e del loro stato di differenziazione. È importante notare che le cellule LS-147T hanno dimostrato di essere tumorigeniche in topi immunodepressi, producendo costantemente tumori quando sono state inoculate per via sottocutanea ad alte densità cellulari, affermando così il loro potenziale maligno.

Inoltre, la linea cellulare LS-147T è particolarmente preziosa negli studi che si concentrano sugli aspetti molecolari e immunologici del cancro coloretale. È stato riportato che questa linea è più facile da subcollocare rispetto alla sua linea madre, LS-180, rendendola una scelta più pratica per gli studi a lungo termine. La robusta produzione di CEA da parte di queste cellule, significativamente superiore a quella di altre linee consolidate come HT-29, rende LS-147T un modello critico per la comprensione delle dinamiche dei marcatori tumorali e l'esplorazione di terapie mirate nel cancro del colon-retto.

**Organism** Umano

**Tissue** Colon

**Disease** Adenocarcinoma

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

## Caratteristiche

**Age** 58 anni

**Gender** Donna

**Ethnicity** Caucasico

**Morphology** Simile all'epitelio

**Growth properties** Aderente

## Celle LS174T | 300392

## Dati normativi

<b>Citation</b>	LS174T (numero di catalogo Cytion 300392)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1384

## Dati biomolecolari

<b>Protein expression</b>	Colon Antigen 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, espressione mRNA +
<b>Antigen expression</b>	HLA A2, B13, B50, gruppo sanguigno O
<b>Isoenzymes</b>	ADA, 1: G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 2, PGD, A, ES-D, 1, PEP-D, 1
<b>Oncogenes</b>	Myc +, myb +, ras +, fos +, p53 +, sis -, abl -, ros -, src -
<b>Tumorigenic</b>	Sì, in topi nudi
<b>Reverse transcriptase</b>	Negativo
<b>Products</b>	Antigene carcinoembrionale (CEA) 1944 ng/106 cellule in 10 giorni, mucina, interleuchina-10 (IL-10), interleuchina-6 (IL-6)
<b>Mutational profile</b>	Le cellule LS-174T portano una mutazione nel codone 12 del gene Kras: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)
<b>Karyotype</b>	45,x con un cromosoma x mancante ma senza altre aberrazioni cromosomiche

## Manipolazione

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (articolo Cytion numero 820100a)
<b>Supplements</b>	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS e l'1% di NEAA

**Celle LS174T | 300392**

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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.
<b>Split ratio</b>	Si consiglia un rapporto da 1:2 a 1:5
<b>Seeding density</b>	Da 5 a $8 \times 10^4$ cellule/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	da 2 a 3 volte alla settimana
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a $5 \times 10^4$ cellule/cm <sup>2</sup> e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.
<b>Freeze medium</b>	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 LS174T | 300392

### 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<sub>2</sub>, 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 LS174T | 300392

### 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

**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

### Alleli 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