

LS513 ląstelės | 300457

Bendra informacija

Description

LS513 ląstelių linija yra gerai apibūdintas kolorektalinės karcinomos modelis, gautas iš pirminio naviko biopsijos, paimtos 1985 m. iš 63 metų amžiaus kaukazietiško vyro. Navikas buvo klasifikuotas kaip Dukes C muciną išskirianti cecalinė karcinoma, esanti Bauhin vožtuve. LS513 ląstelės yra adhezyvinės ir pasižymi daugiaatsparumu vaistams (MDR), todėl jos yra vertingas modelis tirti vaistų atsparumo mechanizmus kolorektalinėje vėžio formoje. Šios ląstelės pasižymi 30 % kolonijų formavimo efektyvumu metilceliuliozėje ir yra tumorigeninės nuogiosios pelėse, o tai dar labiau patvirtina jų naudą onkogeniniuose tyrimuose.

Genetiniu lygiu LS513 ląstelės pasižymi keliais reikšmingais bruožais. Jos yra teigiamos p53 laukinio tipo onkogenui ir ekspresuoja karcinoembrioninį antigeną (CEA) maždaug 50 % ląstelių. Be to, LS513 ląstelės išreiškia pagrindinio histosuderinamumo komplekso (MHC) I klasės antigenus, įskaitant HLA ir beta 2 mikroglobuliną, bet neturi MHC II klasės antigenų (HLA-DR, DQ ir DP). Ląstelės taip pat gamina transformuojantį augimo faktorių beta 1 (TGF beta-1) 83 pg greičiu 10^6 ląstelėms per 24 valandas. Pažymėtina, kad TGF beta-1 veikia kaip LS513 ląstelių proliferacijos inhibitorius, o TGF beta-2 neturi reikšmingo poveikio jų augimui. Palyginti su LS1034 ląstelių linija, LS513 ląstelės yra 100 kartų mažiau jautrios TGF beta-1, o tai rodo skirtingą šių dviejų kolorektalinio karcinomos modelių reakciją į augimo faktoriaus signalus.

LS513 ląstelės pasižymi unikaliu antigenų ekspresijos profiliu, stipriai reaguodamos į tarpląstelinės adhezijos molekulę 1 (ICAM-1) ir HLA I klasės antigenus. Ypač reikšmingas yra MHC II klasės antigenų ekspresijos trūkumas, nes tai rodo galimus imuninės sistemos išvengimo mechanizmus, kurie gali būti susiję su kolorektalinio vėžio progresavimu ir metastazavimu. Šios savybės, kartu su atsparumu daugeliui vaistų ir gebėjimu formuoti navikus imuninės sistemos sutrikimų turinčiose pelėse, daro LS513 ląsteles galingu įrankiu kolorektalinio vėžio molekulinės ir ląstelinės bazės tyrimams, ypač imuninių sąveikų ir terapinio atsparumo kontekste.

Organism Žmogus

Tissue Storosios žarnos

Disease Adenokarcinoma

Synonyms LS513, LS 513

Charakteristikos

Age 63 metai

Gender Vyras

Ethnicity Kaukaziečių

Morphology | epitelį panašus

LS513 ląstelės | 300457

Growth properties	Prigluđes
--------------------------	-----------

Reguliavimo duomenys

Citation	LS513 (Cytion katalogo numeris 300457)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1386
-----------------------------	-----------

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression	CEA+ (50 %), p53+
---------------------------	-------------------

Antigen expression	Karcinoembrioninis antigenas (CEA), ICAM-1, HLA I klasės teigiamas
---------------------------	--

Tumorigenic	Taip, formuoja navikus nuogoms pelėms
--------------------	---------------------------------------

Products	Transformuojantis augimo faktorius beta 1 (TGF beta-1, 83 pg 10 exp6 ląstelių per 24 val.)
-----------------	--

Karyotype	Galima išskirti dvi kamieno linijas. Pagrindinę sudarė 65 % ląstelių, kurių modalinis skaičius buvo 51,XY ir 3 žymenys: M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3 ir monosomija 15. Antrosios kamieninės linijos modalinis chromosomų skaičius buvo 52,XY ir ji turėjo M2 ir M3 bei 1 chromosomos ilgojo peties izochromosomą, vadinamą M4. Visose analizuotose ląstelėse buvo trizomija 5,7, tetrasomija 13 ir monosomija 2 ir 3, linija neturėjo monosomijos 15.
------------------	--

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)
-----------------------	--

Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
--------------------	----------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

LS513 ląstelės | 300457

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Seeding density 1×10^4 ląstelės/cm²

Fluid renewal Kas 3 dienas

Post-Thaw Recovery Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

LS513 ląstelės | 300457

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

LS513 ląstelės | 300457

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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