

LS174T ląstelės | 300392

Bendra informacija

Description

LS147T ląstelių linija yra LS-180 atmaina, abi jos yra gautos iš 58 metų baltaodės pacientės Duke'o B tipo gaubtinės žarnos adenokarcinomos. Originali LS-180 linija buvo sukurta 10 mėnesių kultivuoiant išpjautą naviko audinį. LS-147T, kaip ir jos pirminė linija, išsiskiria tuo, kad joje yra daug onkogenų, įskaitant myc, myb, ras ir fos, o kiti, pavyzdžiui, sis, abl ir ros, yra neigiami. Šioje linijoje taip pat yra didelis karcinoembrioninio antigeno (CEA), interleukino 6 (IL-6) ir interleukino 10 (IL-10), kurie yra svarbūs žymenys ir galimi taikiniai storosios žarnos vėžio tyrimuose, kiekis.

Šioms ląstelėms būdingos kelios pagrindinės storosios žarnos epitelio ląstelių savybės, įskaitant gausias mikroviliules ir intracitoplazmines mucino vakuolas, kurios paprastai būdingos storosios žarnos gleivinės sekrecinėms ląstelėms. Elektroninės mikroskopijos tyrimai patvirtino šias struktūrines detales, taip dar labiau patvirtindami jų kilmę ir diferenciacijos statusą. Svarbu tai, kad LS-147T ląstelės yra navikinės imunodeficitinėse pelėse, o įskiepijus po oda didelį ląstelių tankį, jos nuolat sukelia navikus, taip patvirtindamos savo piktybinį potencialą.

Be to, LS-147T ląstelių linija yra ypač vertinga atliekant tyrimus, skirtus storosios žarnos vėžio molekuliniais ir imunologiniams aspektams tirti. Buvo pranešta, kad šią liniją, palyginti su pagrindine linija LS-180, lengviau subkultūruoti, todėl ji yra praktiškesnis pasirinkimas ilgalaikiams tyrimams. Dėl to, kad šios ląstelės gamina didelį CEA kiekį, kuris yra gerokai didesnis nei kitų nustatytų linijų, pavyzdžiui, HT-29, LS-147T yra labai svarbus modelis siekiant suprasti naviko žymenų dinamiką ir iširti taikinių terapiją storosios žarnos vėžio atveju.

Organism

Žmogus

Tissue

Storosios žarnos

Disease

Adenokarcinoma

Synonyms

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

Charakteristikos

Age

58 metai

Gender

Moteris

Ethnicity

Kaukazičių

Morphology

| epitelį panašus

Growth properties

Priglundęs

LS174T ląstelės | 300392

Reguliavimo duomenys

Citation	LS174T (Cytion katalogo numeris 300392)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1384

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression	Colon Antigen 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, mRNA raiška +
Antigen expression	HLA A2, B13, B50, O kraujo grupė
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 -
Tumorigenic	Taip, su nuogomis pelėmis
Reverse transcriptase	Neigiamas
Products	Karcinoembrioninis antigenas (CEA) 1944 ng/106 ląstelių per 10 dienų, mucinas, interleukinas-10 (IL-10), interleukinas-6 (IL-6)
Mutational profile	LS-174T ląstelės turi Kras geno 12 kodono mutaciją: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)
Karyotype	45,x, kai trūksta vienos x chromosomos, bet nėra kitų chromosomų aberacijų

Tvarkymas

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA

LS174T ląstelės | 300392

Dissociation Reagent Accutase

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 5–8 x 10⁴ ląstelės/cm²

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Post-Thaw Recovery Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5 x 10⁴ 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.

LS174T ląstelės | 300392

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 x 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.

LS174T ląstelės | 300392

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*: 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