

LS180 šūnas | 305823

Vispārīga informācija

Description

LS180 ir cilvēka resnās zarnas adenokarcinomas šūnu līnija, kas iegūta no primārā audzēja pieaugušai pacientei ar vidēji labi diferencētu resnās zarnas adenokarcinomu, kas bija metastāzējusi perikoliskajos taukaudos. Šūnu morfoloģija ir epitēlija, tās ir ovālas līdz daudzstūra formas un diametrs ir no 20 līdz 40 μm. Tām piemīt normālām resnās zarnas gļotādas šūnām raksturīgas ultrastrukturālas īpašības, tostarp bagātīgi mikroviļņi - īpaši izteikti sekrēcijas šūnās - un intracitoplazmatisku mucīna vakuolu klātbūtne. Šīm šūnām ir raksturīgas neoplāzijas pazīmes, tostarp augsts karcīnoembrionālā antigēna (CEA) līmenis un spēja veidot audzējus gan kāmju vaigu maisīšos, gan imūndeficītām pelēm, kas norāda uz to audzēja potenciālu in vivo.

LS180 šūnas izcēlās ar ārkārtīgi augstu CEA produkcijas līmeni, izdalot kultūras vidē aptuveni 900 reižu vairāk CEA uz vienu šūnu un nesot 30 reižu vairāk ar šūnām saistītā CEA nekā citas resnās zarnas vēža līnijas, piemēram, HT-29. Tas padara LS180 par vērtīgu modeli, lai pētītu jaunveidojušos resnās zarnas epitēlija bioķīmiskās, imunoloģiskās un funkcionālās īpašības, jo īpaši saistībā ar CEA saistītajiem audzēju marķieriem. Šūnām ir veikts kariotipējums, un apstiprināts, ka tām ir patoloģiski hromosomu papildinājumi, kas atbilst neoplastiskai transformācijai. To epitēlija identitāte un ar audzēju saistītās pazīmes padara tās piemērotas izmantošanai imunoloģiskajos testos, zāļu skrīningā un kolorektālā vēža bioloģijas un terapeitiskās atbildes reakcijas pētījumos.

Turklāt LS180 ir daļa no vēža šūnu līniju enciklopēdijas (Cancer Cell Line Encyclopedia, CCLE), kur tā ir padziļināti raksturota, izmantojot daudzkomuniku profilēšanu, tostarp proteomiku, transkriptomiku un mutāciju datus. LS180 ir klasificēta kā mikrosatelītu nestabilā (MSI) šūnu līnija, kas ir fenotips, kurš saistīts ar hipermutētu genomu un par kuru ir zināms, ka tas ietekmē proteomu organizāciju un terapeitisko ievainojamību. LS180 proteomiskā analīze atklāja, ka MSI šūnu līnijām, tostarp LS180, ir ievērojami traucēta mutāciju uzraudzībā un translācijas kontrolē iesaistīto olbaltumvielu kompleksu regulācija, kas sniedz ieskatu zāļu jutības un rezistences mehānismos. Proteomikas dati vēl vairāk apstiprina, ka plaša mēroga ceļu līmeņa koordinācija proteīnu ekspresijā LS180 ir atdalīta no RNS ekspresijas, uzsverot tiešas proteīnu līmeņa izpētes nozīmi.

Organism Cilvēks

Tissue Resnās zarnas

Disease Adenokarcinoma

Synonyms LS-180, LS 180, Ķirurģijas laboratorija 180

Raksturojums

Age 58 gadi

Gender Sievietes

Ethnicity Kaukāzietis

LS180 šūnas | 305823

Cell type Resnās zarnas epitēlija šūna

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation LS180 (Cytion kataloga numurs 305823)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0397

Biomolekulārie dati

Antigen expression Seroloģiski definēts resnās zarnas vēža antigēns 3; Homo sapiens, izteikts HLA A2, B13, B50; O asinsgrupa

Isoenzymes ADA, 1 ES-D, 1 G6PD, B PEP-D, 1 PGD, A PGM1, 1 PGM3, 2

Tumorigenic Jā; Jā, kailām pelēm

Mutational profile Mutācija: ACVR2A, vienkārša, p.Lys437Argfs*5 (c.1310delA), homozigotiska, mutācija, CTNNB1, vienkārša, p.Ser45Phe (c.134C>T), homozigotiska, KRAS, vienkārša, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterozigota. Mutācija, PIK3CA, vienkārša, p.His1047Arg (c.3140A>G), neprecizēta Mutācija, TGFBR2, vienkārša, p.Lys128Serfs*35 (c.383delA), homozigota; mutācija, TP53

Karyotype Modālais skaitlis = 45; diapazons = 42-47.

Darbs ar

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

LS180 šūnas | 305823

Doubling time 72 stundas

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

LS180 šūnas | 305823

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.