

## LS513 Šūnas | 300457

## Vispārīga informācija

## Description

LS513 šūnu līnija ir labi raksturots kolorektālā karcinoma modelis, kas iegūts no primārā audzēja biopsijas, kas 1985. gadā veikta 63 gadus vecam kaukāziešu izcelsmes vīriešu pacientam. Audzējs tika klasificēts kā Dukes C mucīnu izdalījošs cēkuma karcinoma, kas atrodas Bauhina vārstulī. LS513 šūnas ir adhezīvas un ir parādījušas daudzveidīgu rezistenci pret zālēm (MDR), kas padara tās par vērtīgu modeli kolorektālā vēža zāļu rezistences mehānismu pētīšanai. Šīs šūnas metilcelulozē parāda 30 % koloniju veidošanas efektivitāti un ir tumorogēnas kailām pelēm, kas vēl vairāk apstiprina to lietošanu onkogēnos pētījumos.

Ģenētiskā līmenī LS513 šūnas izpauž vairākas ievērojamas īpašības. Tās ir pozitīvas attiecībā uz p53 savvaļas tipa onkogēnu un izpauž karcinoembrionālo antigēnu (CEA) aptuveni 50 % šūnu. Turklāt LS513 šūnas izpauž galvenā histosaderības kompleksa (MHC) I klases antigēnus, tostarp HLA un beta 2 mikroglobulīnu, bet tām trūkst MHC II klases antigēnu (HLA-DR, DQ un DP). Šūnas ražo arī transformējošo augšanas faktoru beta 1 (TGF beta-1) ar ātrumu 83 pg uz  $10^6$  šūnām 24 stundās. Jāatzīmē, ka TGF beta-1 darbojas kā LS513 šūnu proliferācijas inhibitors, bet TGF beta-2 nav nozīmīgas ietekmes uz to augšanu. Salīdzinot ar LS1034 šūnu līniju, LS513 šūnas ir 100 reizes mazāk jutīgas pret TGF beta-1, kas norāda uz atšķirīgām reakcijām uz augšanas faktora signāliem starp šiem diviem kolorektālā karcinoma modeļiem.

LS513 šūnas uzrāda unikālu antigēnu ekspresijas profilu, ar spēcīgu pozitīvu starpšūnu adhezijas molekulai 1 (ICAM-1) un HLA I klases antigēniem. Īpaši jāatzīmē MHC II klases antigēnu ekspresijas trūkums, jo tas liecina par potenciāliem imūnsistēmas izvairīšanās mehānismiem, kas varētu būt saistīti ar kolorektālā vēža progresēšanu un metastāzēm. Šīs īpašības, kopā ar rezistenci pret vairākiem medikamentiem un spēju veidot audzējus imūndeficītiem pelēm, padara LS513 šūnas par spēcīgu instrumentu kolorektālā vēža molekulāro un šūnu pamatu izpētei, īpaši imūnsistēmas mijiedarbības un terapeitiskās rezistences kontekstā.

**Organism** Cilvēks

**Tissue** Kolorektālais

**Disease** Adenokarcinoma

**Synonyms** LS513, LS 513

## Raksturojums

**Age** 63 gadi

**Gender** Vīrieši

**Ethnicity** Kaukāzietis

**Morphology** Epitēlijveidīgs

## LS513 Šūnas | 300457

**Growth properties** Adherent

**Normatīvie dati**

**Citation** LS513 (Cytion kataloga numurs 300457)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1386

**Biomolekulārie dati**

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

**Antigen expression** Karcinoembrionālais antigēns (CEA), ICAM-1, HLA I klases pozitīvs

**Tumorigenic** Jā, veido audzējus kailām pelēm

**Products** Transformējošais augšanas faktors beta 1 (TGF beta-1, 83 pg uz 10 eksp6 šūnām 24 stundās)

**Karyotype** Var izdalīt divas stumbra līnijas. Galvenā bija pārstāvēta 65 % šūnu ar modālo skaitu 51,XY un 3 marķieriem: M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3 un monosomija 15. Otrajai cilmes līnijai bija modāls hromosomu skaits 52,XY, un tai bija M2 un M3, kā arī izohromosoma 1. hromosomas garajam atzaram, ko sauc par M4. Visās analizētajās šūnās bija trisomija 5,7, tetrasomija 13 un monosomija 2 un 3, bet līnijā nebija monosomijas 15.

**Darbs ar**

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

## LS513 Šūnas | 300457

---

<b>Subculturing</b>	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ šūnas/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	Ik pēc 3 dienām
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu $5 \times 10^4$ šūnas/cm <sup>2</sup> un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.
<b>Freeze medium</b>	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.

---

## LS513 Šūnas | 300457

### 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 °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 x 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%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Neviens

### Freezing Procedure

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

## LS513 Šūnas | 300457

### 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 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### 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.

### HLA alēles

**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