

## LS174T šūnas | 300392

## Vispārīga informācija

## Description

LS147T šūnu līnija ir LS-180 variants; abas ir iegūtas no 58 gadus vecas baltādainas pacientes, kurai bija Djūka B tipa resnās zarnas adenokarcinoma. Sākotnējā LS-180 līnija tika izveidota, 10 mēnešus kultivējot sasmalcinātus audzēja audus. LS-147T, tāpat kā tās vecākā līnija, izceļas ar vairāku onkogēnu, tostarp myc, myb, ras un fos, ekspresiju, bet citu, piemēram, sis, abl un ros, ekspresija ir negatīva. Šajā līnijā ir arī augsts karcīnoembrionālā antigēna (CEA), interleikīna 6 (IL-6) un interleikīna 10 (IL-10) līmenis, kas ir svarīgi marķieri un potenciālie mērķi kolorektālā vēža pētījumos.

Šīm šūnām piemīt vairākas svarīgākās resnās zarnas epitēlija šūnu pazīmes, tostarp bagātīgi mikroviļņi un intracitoplazmas mucīna vakuolas, kas parasti ir raksturīgas resnās zarnas gļotādas sekrēcijas šūnām. Elektronmikroskopijas pētījumi ir apstiprinājuši šīs strukturālās detaļas, kas vēl vairāk apstiprina to izcelsmi un diferenciacijas statusu. Svarīgi ir tas, ka LS-147T šūnas ir pierādījušas, ka tās ir tumorogēnas imunitāti zaudējušām pelēm, un, injicējot zemādas šūnas ar lielu šūnu blīvumu, tās konsekvēnti rada audzējus, tādējādi apstiprinot to ļaundabīgo potenciālu.

Turklāt LS-147T šūnu līnija ir īpaši vērtīga pētījumos, kas vērsti uz kolorektālā vēža molekulārajiem un imunoloģiskajiem aspektiem. Ir ziņots, ka šo līniju ir vieglāk subkulturēt, salīdzinot ar tās vecāko līniju LS-180, tāpēc tā ir praktiskāka izvēle ilgtermiņa pētījumiem. Šo šūnu spēcīgā CEA produkcija, kas ir ievērojami augstāka nekā citās iedibinātās līnijās, piemēram, HT-29, padara LS-147T par ļoti svarīgu modeli audzēja marķieru dinamikas izpratnei un mērķtiecīgas terapijas izpētei kolorektālā vēža gadījumā.

## Organism

Cilvēks

## Tissue

Resnās zarnas

## Disease

Adenokarcinoma

## Synonyms

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

## Raksturojums

## Age

58 gadi

## Gender

Sievietes

## Ethnicity

Kaukāzietis

## Morphology

Epitēlijveidīgs

## Growth properties

Adherent

## LS174T šūnas | 300392

## Normatīvie dati

<b>Citation</b>	LS174T (Cytion kataloga numurs 300392)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1384

## Biomolekulārie dati

<b>Protein expression</b>	Resnās zarnas antigēns 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, mRNS ekspresija +
<b>Antigen expression</b>	HLA A2, B13, B50, O asins grupa
<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>	Jā, kailām pelēm
<b>Reverse transcriptase</b>	Negatīvs
<b>Products</b>	Karcinoembrionālais antigēns (CEA) 1944 ng/106 šūnu 10 dienās, mucīns, interleikīns-10 (IL-10), interleikīns-6 (IL-6)
<b>Mutational profile</b>	LS-174T šūnām ir mutācija Kras gēna 12. kodonā: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)
<b>Karyotype</b>	45,x ar vienas x hromosomas iztrūkumu, bet bez citām hromosomu novirzēm

## Darbs ar

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
<b>Supplements</b>	Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA

## LS174T šūnas | 300392

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** 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.

**Seeding density** 5 līdz  $8 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izklieđiet 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.

**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 atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

## LS174T šūnas | 300392

**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.

## LS174T šūnas | 300392

### 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\***: '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