

LS513 Cellen | 300457

Algemene informatie

Description

De LS513-cel lijn is een goed gekarakteriseerd model voor colorectaal carcinoom, afkomstig van een primaire tumorbiopsie die in 1985 werd genomen bij een 63-jarige blanke mannelijke patiënt. De tumor werd geclassificeerd als een Dukes' C mucine-uitscheidend cecumcarcinoom, gelegen bij de Bauhin-klep. LS513-cellen zijn van nature adherent en vertonen multiresistentie tegen geneesmiddelen (MDR), waardoor ze een waardevol model zijn voor het bestuderen van mechanismen van geneesmiddelenresistentie bij colorectale kanker. Deze cellen vertonen een kolonievormende efficiëntie van 30% in methylcellulose en zijn tumorigeen in naakte muizen, wat hun gebruik in oncogene studies verder valideert.

Op genetisch niveau vertonen LS513-cellen verschillende opmerkelijke kenmerken. Ze zijn positief voor het p53-wildtype-oncogen en brengen carcino-embryonaal antigeen (CEA) tot expressie op ongeveer 50% van de cellen. Bovendien brengen LS513-cellen major histocompatibility complex (MHC) klasse I-antigenen tot expressie, waaronder HLA en bèta-2-microglobuline, maar missen ze MHC klasse II-antigenen (HLA-DR, DQ en DP). De cellen produceren ook transformerende groeifactor bèta 1 (TGF bèta-1) met een snelheid van 83 pg per 10^6 cellen per 24 uur. Opvallend is dat TGF-bèta-1 werkt als een remmer van de proliferatie van LS513-cellen, terwijl TGF-bèta-2 geen significant effect heeft op hun groei. In vergelijking met de LS1034-cel lijn zijn LS513-cellen 100 keer minder gevoelig voor TGF-bèta-1, wat wijst op verschillende reacties op groeifactor signalering tussen deze twee colorectale carcinoommodellen.

LS513-cellen vertonen een uniek profiel van antigeenexpressie, met een sterke positiviteit voor intercellulaire adhesiemoleculen 1 (ICAM-1) en HLA klasse I-antigenen. Het ontbreken van MHC klasse II-antigeenexpressie is bijzonder opmerkelijk, omdat dit wijst op mogelijke immunontwikkelingsmechanismen die relevant kunnen zijn voor de progressie en metastase van colorectale kanker. Deze kenmerken, in combinatie met hun resistentie tegen meerdere geneesmiddelen en hun vermogen om tumoren te vormen in immuungecompromitteerde muizen, maken LS513-cellen tot een krachtig hulpmiddel voor het bestuderen van de moleculaire en cellulaire basis van colorectale kanker, vooral in de context van immuuninteracties en therapeutische resistentie.

Organism

Mens

Tissue

Colorectaal

Disease

Adenocarcinoom

Synonyms

LS513, LS 513

Kenmerken

Age

63 jaar

Gender

Mannelijk

Ethnicity

Kaukasisch

LS513 Cellen | 300457

Morphology Epitheelachtig

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation LS513 (Cytion catalogusnummer 300457)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1386

Biomoleculaire gegevens

Protein expression CEA+ (50%), p53+

Antigen expression Carcino-embryonaal antigeen (CEA), ICAM-1, HLA klasse I positief

Tumorigenic Ja, vormt tumoren in naakte muizen

Products Transformerende groeifactor bèta 1 (TGF bèta-1, 83 pg per 10 exp6 cellen per 24 uur)

Karyotype Er kunnen twee stamlijnen worden onderscheiden. De belangrijkste was vertegenwoordigd in 65% van de cellen, met een modaal aantal van 51,xY en 3 markers, M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3, en een monosomie 15. De tweede stamlijn had een modaal chromosoomnummer van 52,xY en presenteerde M2 en M3 plus een isochromosoom voor de lange arm van chromosoom 1, genaamd M4. De tweede stamlijn had een modaal chromosoomnummer van 52,xY en presenteerde M2 en M3 plus een isochromosoom voor de lange arm van chromosoom 1 genaamd M4. Een trisomie 5,7, een tetrasomie 13, en een monosomie 2 en 3 waren aanwezig in alle geanalyseerde cellen, de lijn vertoonde geen monosomie 15.

Omgaan met

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamine, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

LS513 Cellen | 300457

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio Een verhouding van 1:3 tot 1:4 wordt aanbevolen

Seeding density 1×10^4 cellen/cm²

Fluid renewal Om de 3 dagen

Post-Thaw Recovery Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5×10^4 c^{ellen}/cm² en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

LS513 Cellen | 300457

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

LS513 Cellen | 300457

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

CSF1PO: 10
D13S317: 9,10
D16S539: 12,13
D5S818: 11
D7S820: 8,11
TH01: 8
TPOX: 8
vWA: 16,17
D3S1358: 15
D21S11: 30
D18S51: 12,18
Penta E: 5,18
Penta D: 9,14
D8S1179: 13
FGA: 19,21

HLA-allelen

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