

## LS513 Cells | 300457

## Generell informasjon

## Description

LS513-cellelinjen er en velkjent kolorektal karsinommodell avledet fra en primær tumorbiopsi tatt i 1985 fra en 63 år gammel kaukasisk mannlig pasient. Tumoren ble klassifisert som et Dukes' C mucin-sekretende cecal karsinom lokalisert ved Bauhin-ventilen. LS513-celler er av natur vedheftende og har vist multiresistens (MDR), noe som gjør dem til en verdifull modell for å studere mekanismer for legemiddelresistens i kolorektal kreft. Disse cellene viser en 30 % kolonidannende effektivitet i metylcellulose og er tumorigeniske i nakne mus, noe som ytterligere bekrefter deres bruk i onkogene studier.

På genetisk nivå uttrykker LS513-celler flere bemerkelsesverdige egenskaper. De er positive for p53-villtype-onkogenet og uttrykker karsinoembryonalt antigen (CEA) på omtrent 50 % av cellene. I tillegg uttrykker LS513-celler major histocompatibility complex (MHC) klasse I-antigener, inkludert HLA og beta 2-mikroglobulin, men mangler MHC klasse II-antigener (HLA-DR, DQ og DP). Cellene produserer også transformerende vekstfaktor beta 1 (TGF beta-1) med en hastighet på 83 pg per  $10^6$  celler per 24 timer. Det er verdt å merke seg at TGF beta-1 virker som en hemmer av LS513-celleproliferasjon, mens TGF beta-2 ikke har noen signifikant effekt på deres vekst. Sammenlignet med LS1034-cellelinjen er LS513-celler 100 ganger mindre følsomme for TGF beta-1, noe som indikerer forskjellige responser på vekstfaktorsignaler mellom disse to kolorektale karsinommodellene.

LS513-celler viser et unikt profil av antigenuttrykk, med sterk positivitet for intercellulært adhesjonsmolekyl 1 (ICAM-1) og HLA klasse I-antigener. Mangelen på MHC klasse II-antigenuttrykk er spesielt bemerkelsesverdig, da det tyder på potensielle immununvikelsesmekanismer som kan være relevante for progresjon og metastase av kolorektal kreft. Disse egenskapene, sammen med deres resistens mot flere legemidler og deres evne til å danne svulster i immunsvekkede mus, gjør LS513-celler til et kraftig verktøy for å studere de molekylære og cellulære grunnlagene for kolorektal kreft, spesielt i sammenheng med immuninteraksjoner og terapeutisk resistens.

**Organism** Menneskelig

**Tissue** Kolorektal

**Disease** Adenokarsinom

**Synonyms** LS513, LS 513

## Kjennetegn

**Age** 63 år

**Gender** Mann

**Ethnicity** Kaukasisk

**Morphology** Epitel-lignende

## LS513 Celler | 300457

**Growth properties** Vedhengende

## Regulatoriske data

**Citation** LS513 (Cytion-katalognummer 300457)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1386

## Biomolekylære data

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

**Antigen expression** Karsinoembryonalt antigen (CEA), ICAM-1, HLA klasse I-positiv

**Tumorigenic** Ja, danner svulster i nakne mus

**Products** Transforming growth factor beta 1 (TGF beta-1, 83 pg per 10 exp6-celler per 24 timer)

**Karyotype** Det kan skilles mellom to stamlinjer. Den viktigste var representert i 65 % av cellene, med et modalt antall på 51,X,Y og 3 markører, M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3, og en monosomi 15. Den andre stamlinjen hadde et modalt kromosomnummer på 52,X,Y og presenterte M2 og M3 pluss et isokromosom for den lange armen av kromosom 1 kalt M4. En trisomi 5,7, en tetrasomi 13 og en monosomi 2 og 3 var til stede i alle de analyserte cellene, men linjen hadde ikke monosomi 15.

## Håndtering

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820400a)

**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

## LS513 Celler | 300457

**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

**Split ratio** Et forhold på 1:3 til 1:4 anbefales

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Hver tredje dag

**Post-Thaw Recovery** Etter tining, plasser cellene på  $5 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup> og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.

**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobybeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

## LS513 Celler | 300457

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## LS513 Celler | 300457

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

### STR-profil

**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-alleler

**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