

LS174T-celler | 300392

Generell informasjon

Description

LS147T-cellelinjen er en variant av LS-180, som begge er avledet fra et Duke's type B adenokarsinom i tykktarmen hos en 58 år gammel hvit kvinnelig pasient. Den opprinnelige LS-180-linjen ble etablert ved å dyrke opphakkete tumorvev i 10 måneder. LS-147T er, i likhet med foreldrelinjen, kjent for å uttrykke flere onkogener, inkludert myc, myb, ras og fos, mens den er negativ for andre som sis, abl og ros. Denne linjen uttrykker også høye nivåer av karsinoembryonalt antigen (CEA), interleukin 6 (IL-6) og interleukin 10 (IL-10), som er viktige markører og potensielle mål i forskning på kolorektal kreft.

Disse cellene har flere viktige kjennetegn ved epitelceller i tykktarmen, blant annet rikelig med mikrovilli og intracytoplasmatiske mucinvakuoler, som er kjennetegn som vanligvis forbindes med sekretoriske celler i tykktarmsslimhinnen. Elektronmikroskopistudier har bekreftet disse strukturelle detaljene, noe som ytterligere underbygger deres opprinnelse og differensieringsstatus. Det er viktig å merke seg at LS-147T-celler har vist seg å være tumorigene i immundepriverte mus, og at de konsekvent produserer svulster når de inokuleres subkutant i høye celletettheter, noe som bekrefter deres maligne potensial.

LS-147T-cellelinjen er dessuten spesielt verdifull i studier som fokuserer på de molekylære og immunologiske aspektene ved kolorektal kreft. Det er rapportert at denne cellelinjen er lettere å subkulturere sammenlignet med moderlinjen LS-180, noe som gjør den til et mer praktisk valg for langtidsstudier. Den robuste produksjonen av CEA i disse cellene, som er betydelig høyere enn i andre etablerte linjer som HT-29, gjør LS-147T til en viktig modell for å forstå dynamikken i tumormarkører og utforske målrettede terapier for kolorektal kreft.

Organism

Menneskelig

Tissue

Colon

Disease

Adenokarsinom

Synonyms

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

Kjennetegn

Age

58 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Epitel-lignende

Growth properties

Vedhengende

LS174T-celler | 300392

Regulatoriske data

Citation	LS174T (Cytion-katalognummer 300392)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1384

Biomolekylære data

Protein expression	Colon Antigen 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, mRNA-uttrykk +
Antigen expression	HLA A2, B13, B50, blodtype O
Isoenzymes	ADA, 1: G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 2, PGD, A, ES-D, 1, PEP-D, 1
Oncogenes	Myc +, myb +, ras +, fos +, p53 +, sis -, abl -, ros -, src -
Tumorigenic	Ja, i nakne mus
Reverse transcriptase	Negativ
Products	Carcinoembryonalt antigen (CEA) 1944 ng/106 celler i 10 dager, mucin, interleukin-10 (IL-10), interleukin-6 (IL-6)
Mutational profile	LS-174T-celler har en mutasjon i kodon 12 i Kras-genet: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)
Karyotype	45,x med manglende x-kromosom, men ingen andre kromosomavvik

Håndtering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO ₃ , m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA

LS174T-celler | 300392

Dissociation Reagent Accutase

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 1:2 til 1:5 anbefales

Seeding density 5 til 8×10^4 cell^{er}/cm²

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Post-Thaw Recovery Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm² 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 osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

LS174T-celler | 300392

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 % 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.

LS174T-celler | 300392**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

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 10,14
D13S317: 10,11
D16S539: 11,13
D5S818: 11,15
D7S820: 10,3,11
TH01: 6,7
TPOX: 8,9
vWA: 15,17,18,19
D3S1358: 15,17
D21S11: 29,30,31
D18S51: 11,13
Penta E: 15,16
Penta D: 10
D8S1179: 11,12,16
FGA: 21,22
D1S1656: 12,13,14,18.3,19.3
D6S1043: 12,13,14
D2S1338: 18,22
D12S391: 18,19,20
D19S433: 13,14,15

HLA-alleler

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