

**Komórki LS180 | 305823****Informacje ogólne****Description**

LS180 to ludzka linia komórkowa gruczolakoraka okrężnicy utworzona z guza pierwotnego dorosłej pacjentki z umiarkowanie dobrze zróżnicowanym gruczolakorakiem okrężnicy, który dał przerzuty do okołokomorowej tkanki tłuszczowej. Komórki mają morfologię nabłonkową, kształt od owalnego do wielokąta i średnicę od 20 do 40 µm. Wykazują cechy ultrastrukturalne typowe dla prawidłowych komórek błony śluzowej okrężnicy, w tym obfite mikrokosmki - szczególnie widoczne w komórkach wydzielniczych - oraz obecność wewnątrzcytoplazmatycznych wakuoli mucynowych. Komórki te wykazują charakterystyczne cechy neoplazji, w tym wysoki poziom produkcji antygenu rakowo-płodowego (CEA) i zdolność do tworzenia guzów zarówno w torebkach policzkowych chomików, jak i myszy z niedoborem odporności, co wskazuje na ich potencjał nowotworowy in vivo.

Komórki LS180 wyróżniły się wyjątkowo wysokim poziomem produkcji CEA, uwalniając około 900 razy więcej CEA na komórkę do pożywki hodowlanej i przenosząc 30 razy więcej CEA związanego z komórką niż inne linie raka okrężnicy, takie jak HT-29. Sprawia to, że LS180 jest cennym modelem do badania biochemicznych, immunologicznych i funkcjonalnych właściwości nowotworowego nabłonka okrężnicy, szczególnie w odniesieniu do markerów nowotworowych związanych z CEA. Komórki zostały poddane kariotypowaniu i potwierdzono, że mają nieprawidłowe uzupełnienia chromosomalne zgodne z transformacją nowotworową. Ich tożsamość nabłonkowa i cechy związane z nowotworem sprawiają, że są one odpowiednie do stosowania w testach immunologicznych, badaniach przesiewowych leków oraz badaniach nad biologią raka jelita grubego i odpowiedzią terapeutyczną.

Dodatkowo, LS180 jest częścią Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE), gdzie został dogłębnie scharakteryzowany poprzez profilowanie wieloomowe, w tym proteomikę, transkryptomikę i dane dotyczące mutacji. LS180 jest sklasyfikowana jako linia komórkowa niestabilna mikrosatelitarnie (MSI), fenotyp związany z hipermutowanym genomem i znany z wpływu na organizację proteomu i podatność terapeutyczną. Analiza proteomiczna LS180 wykazała, że linie komórkowe MSI, w tym LS180, wykazują znaczną dysregulację kompleksów białkowych zaangażowanych w nadzór mutacji i kontrolę translacji, oferując wgląd w mechanizmy wrażliwości i oporności na leki. Dane proteomiczne dodatkowo potwierdzają, że koordynacja na dużą skalę na poziomie szlaków w ekspresji białek w LS180 jest oddzielona od ekspresji RNA, podkreślając znaczenie bezpośrednich badań na poziomie białek.

**Organism** Człowiek**Tissue** Colon**Disease** Gruczolakorak**Synonyms** LS-180, LS 180, Laboratorium chirurgii 180**Charakterystyka****Age** 58 lat**Gender** Kobieta

**Komórki LS180 | 305823****Ethnicity**      Kaukaski**Cell type**      Komórka nabłonkowa okrężnicy**Growth properties**      Adherent**Dane regulacyjne****Citation**      LS180 (numer katalogowy Cytion 305823)**Biosafety level**      1**NCBI\_TaxID**      9606**CellosaurusAccession**      CVCL\_0397**Dane biomolekularne****Antigen expression**      Serologicznie zdefiniowany antygen raka okrężnicy 3; Homo sapiens, wyrażony HLA A2, B13, B50; Grupa krwi O**Isoenzymes**      ADA, 1 ES-D, 1 G6PD, B PEP-D, 1 PGD, A PGM1, 1 PGM3, 2**Tumorigenic**      Tak; Tak, u nagich myszy**Mutational profile**      Mutacja: ACVR2A, Simple, p.Lys437Argfs\*5 (c.1310delA), Homozygotyczna, Mutacja, CTNNB1, Simple, p.Ser45Phe (c.134C>T), Homozygotyczna, KRAS, Simple, p.Gly12Asp (c.35G>A), Heterozygotyczna. Mutacja, PIK3CA, Simple, p.His1047Arg (c.3140A>G), Nieokreślona Mutacja, TGFBR2, Simple, p.Lys128Serfs\*35 (c.383delA), Homozygotyczna; Mutacja, TP53**Karyotype**      Liczba modalna = 45; zakres = 42 do 47.**Obsługa****Culture Medium**      EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements**      Uzupelnic podloze 10% FBS

## Komórki LS180 | 305823

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 72 godziny

**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation Atmosphere**  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

## Komórki LS180 | 305823

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Przechowywanie w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.