

Komórki LS513 | 300457**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa LS513 jest dobrze scharakteryzowanym modelem raka jelita grubego pochodzącym z biopsji guza pierwotnego pobranej w 1985 roku od 63-letniego pacjenta rasy kaukaskiej. Guz został sklasyfikowany jako rak jelita ślepego wydzielający mucynę typu C według klasyfikacji Duke'a, zlokalizowany w zastawce Bauhina. Komórki LS513 mają charakter adhezyjny i wykazują wielolekową oporność (MDR), co czyni je cennym modelem do badania mechanizmów oporności na leki w raku jelita grubego. Komórki te wykazują 30% wydajność tworzenia kolonii w metylocelulozie i są nowotworowe u myszy nagich, co dodatkowo potwierdza ich przydatność w badaniach onkogennych.

Na poziomie genetycznym komórki LS513 wykazują kilka istotnych cech. Są one pozytywne pod względem onkogeny p53 typu dzikiego i wykazują ekspresję antygenu rakowo-płodowego (CEA) w około 50% komórek. Ponadto komórki LS513 wykazują ekspresję antygenów głównego kompleksu zgodności tkankowej (MHC) klasy I, w tym HLA i beta 2 mikroglobuliny, ale nie wykazują ekspresji antygenów MHC klasy II (HLA-DR, DQ i DP). Komórki te wytwarzają również transformujący czynnik wzrostu beta 1 (TGF beta-1) w ilości 83 pg na 10⁶ komórek na 24 godziny. Co ciekawe, TGF beta-1 działa jako inhibitor proliferacji komórek LS513, podczas gdy TGF beta-2 nie ma znaczącego wpływu na ich wzrost. W porównaniu z linią komórkową LS1034, komórki LS513 są 100-krotnie mniej wrażliwe na TGF beta-1, co wskazuje na różne reakcje na sygnalizację czynników wzrostu między tymi dwoma modelami raka jelita grubego.

Komórki LS513 wykazują unikalny profil ekspresji antygenów, z silną pozytywnością dla cząsteczki adhezyjnej międzykomórkowej 1 (ICAM-1) i antygenów HLA klasy I. Na szczególną uwagę zasługuje brak ekspresji antygenów MHC klasy II, ponieważ sugeruje to potencjalne mechanizmy unikania odpowiedzi immunologicznej, które mogą mieć znaczenie w progresji raka jelita grubego i przerzutach. Cechy te, wraz z opornością na wiele leków i zdolnością do tworzenia nowotworów u myszy z obniżoną odpornością, sprawiają, że komórki LS513 są potężnym narzędziem do badania molekularnych i komórkowych podstaw raka jelita grubego, zwłaszcza w kontekście interakcji immunologicznych i oporności na leczenie.

Organism	Człowiek
Tissue	Jelito grube
Disease	Gruzołakorak
Synonyms	LS513, LS 513

Charakterystyka

Age	63 lata
Gender	Mężczyzna
Ethnicity	Kaukaski

Komórki LS513 | 300457**Morphology** Podobny do nabłonka**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** LS513 (numer katalogowy Cytion 300457)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1386**Dane biomolekularne****Protein expression** CEA+ (50%), p53+**Antigen expression** Antygen rakowo-płodowy (CEA), ICAM-1, HLA klasy I dodatni**Tumorigenic** Tak, tworzy guzy u nagich myszy**Products** Transformujący czynnik wzrostu beta 1 (TGF beta-1, 83 pg na 10 komórek exp6 w ciągu 24 godzin)**Karyotype** Można wyróżnić dwie linie macierzyste. Główna była reprezentowana w 65% komórek, z modalną liczbą 51,xY i 3 markerami, M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3 i monosomią 15. Druga linia macierzysta miała modalną liczbę chromosomów 52,xY i prezentowała M2 i M3 oraz izochromosom dla długiego ramienia chromosomu 1 zwanego M4. Trisomia 5,7, tetrasomia 13 oraz monosomia 2 i 3 były obecne we wszystkich analizowanych komórkach, linia nie wykazywała monosomii 15.**Obsługa****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820400a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Komórki LS513 | 300457

Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecany jest stosunek 1:3 do 1:4
Seeding density	1×10^4 komórek/cm ²
Fluid renewal	Co 3 dni
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm ² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.
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.

Komórki LS513 | 300457

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°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°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°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki LS513 | 300457**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°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °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.

Profil STR

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

Allele HLA

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