

## Ogniwa LS174T | 300392

## Informacje ogólne

## Description

Linia komórkowa LS147T jest wariantem LS-180, z których oba pochodzą z gruczolakoraka okrężnicy typu B Duke'a u 58-letniej białej pacjentki. Oryginalna linia LS-180 została utworzona poprzez hodowlę zmielonej tkanki nowotworowej przez 10 miesięcy. LS-147T, wraz ze swoją linią macierzystą, wyróżnia się ekspresją wielu onkogenów, w tym myc, myb, ras i fos, będąc jednocześnie negatywną dla innych, takich jak sis, abl i ros. Linia ta wykazuje również wysoki poziom antygenu rakowo- płodowego (CEA), interleukiny 6 (IL-6) i interleukiny 10 (IL-10), które są ważnymi markerami i potencjalnymi celami w badaniach nad rakiem jelita grubego.

Komórki te wykazują kilka kluczowych cech komórek nabłonka okrężnicy, w tym obfite mikrokosmki i wewnątrzcytoplazmatyczne wakuole mucynowe, które są cechami typowo związanymi z komórkami wydzielniczymi w błonie śluzowej okrężnicy. Badania mikroskopii elektronowej potwierdziły te szczegóły strukturalne, dodatkowo wspierając ich pochodzenie i status różnicowania. Co ważne, wykazano, że komórki LS-147T są nowotworotwórcze u myszy pozbawionych odporności, konsekwentnie wytwarzając guzy po zaszczepieniu podskórnie przy dużej gęstości komórek, potwierdzając w ten sposób ich złośliwy potencjał.

Co więcej, linia komórkowa LS-147T jest szczególnie cenna w badaniach skupiających się na molekularnych i immunologicznych aspektach raka jelita grubego. Doniesiono, że linia ta jest łatwiejsza do subkultury w porównaniu do linii macierzystej, LS-180, co czyni ją bardziej praktycznym wyborem do badań długoterminowych. Silna produkcja CEA przez te komórki, która jest znacznie wyższa niż w przypadku innych uznanych linii, takich jak HT-29, sprawia, że LS-147T jest krytycznym modelem do zrozumienia dynamiki markerów nowotworowych i badania terapii celowanych w raku jelita grubego.

**Organism** Człowiek

**Tissue** Colon

**Disease** Gruczolakorak

**Synonyms** Ls174T, LS174t, Ls-174-T, LS-174-T, LS 174 T, LS174T, Ls-174T, LS 174T, LS-174, LS174

## Charakterystyka

**Age** 58 lat

**Gender** Kobieta

**Ethnicity** Kaukaski

**Morphology** Podobny do nabłonka

**Growth properties** Adherent

## Ogniwa LS174T | 300392

## Dane regulacyjne

<b>Citation</b>	LS174T (numer katalogowy Cytion 300392)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1384

## Dane biomolekularne

<b>Protein expression</b>	Antygen okrężnicy 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, ekspresja mRNA +
<b>Antigen expression</b>	HLA A2, B13, B50, grupa krwi O
<b>Isoenzymes</b>	ADA, 1: G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 2, PGD, A, ES-D, 1, PEP-D, 1
<b>Oncogenes</b>	Myc +, myb +, ras +, fos +, p53 +, sis -, abl -, ros -, src -
<b>Tumorigenic</b>	Tak, u nagich myszy
<b>Reverse transcriptase</b>	Negatywny
<b>Products</b>	Antygen rakowo-płodowy (CEA) 1944 ng/106 komórek w ciągu 10 dni, mucyna, interleukina-10 (IL-10), interleukina-6 (IL-6)
<b>Mutational profile</b>	Komórki LS-174T są nosicielami mutacji w kodonie 12 genu Kras: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)
<b>Karyotype</b>	45,x z brakiem jednego chromosomu x, ale bez innych aberracji chromosomalnych

## Obsługa

<b>Culture Medium</b>	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
<b>Supplements</b>	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA

**Ogniwa LS174T | 300392**

**Dissociation Reagent** Accutase

**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** Zalecane są proporcje od 1:2 do 1:5

**Seeding density** 5 do  $8 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu

**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości  $5 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup> 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.

**Ogniwa LS174T | 300392****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.

**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  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Ogniwa LS174T | 300392

### 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 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 °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

**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

Ogniwa LS174T | 300392

**Allele HLA**

**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