

Células LS513 | 300457**Informações gerais****Description**

A linha celular LS513 é um modelo bem caracterizado de carcinoma colorretal derivado de uma biópsia de tumor primário realizada em 1985 num paciente caucasiano de 63 anos. O tumor foi classificado como carcinoma cecal secretor de mucina Dukes C localizado na válvula de Bauhin. As células LS513 são aderentes por natureza e demonstraram resistência a múltiplas drogas (MDR), tornando-as um modelo valioso para o estudo dos mecanismos de resistência a medicamentos no cancro colorretal. Estas células exibem uma eficiência de formação de colónias de 30% em metilcelulose e são tumorigénicas em ratos nude, validando ainda mais a sua utilização em estudos oncogénicos.

Ao nível genético, as células LS513 expressam várias características notáveis. São positivas para o oncogene p53 de tipo selvagem e expressam o antígeno carcinoembrionário (CEA) em aproximadamente 50% das células. Além disso, as células LS513 expressam antígenos do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe I, incluindo HLA e beta 2 microglobulina, mas não possuem antígenos MHC de classe II (HLA-DR, DQ e DP). As células também produzem fator de crescimento transformador beta 1 (TGF beta-1) a uma taxa de 83 pg por 10^6 células por 24 horas. Notavelmente, o TGF beta-1 atua como um inibidor da proliferação celular LS513, enquanto o TGF beta-2 não tem efeito significativo no seu crescimento. Em comparação com a linha celular LS1034, as células LS513 são 100 vezes menos sensíveis ao TGF beta-1, indicando respostas distintas à sinalização do fator de crescimento entre estes dois modelos de carcinoma colorretal.

As células LS513 exibem um perfil único de expressão de antígenos, com forte positividade para a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) e antígenos HLA classe I. A ausência de expressão do antígeno MHC classe II é particularmente digna de nota, pois sugere potenciais mecanismos de evasão imunológica que podem ser relevantes para a progressão e metástase do cancro colorretal. Estas características, juntamente com a sua resistência a múltiplos fármacos e a sua capacidade de formar tumores em ratos imunocomprometidos, tornam as células LS513 uma ferramenta poderosa para estudar as bases moleculares e celulares do cancro colorretal, especialmente no contexto das interações imunológicas e da resistência terapêutica.

Organism Humano**Tissue** Colorrectal**Disease** Adenocarcinoma**Synonyms** LS513, LS 513**Caraterísticas****Age** 63 anos**Gender** Masculino**Ethnicity** Caucasiano

Células LS513 | 300457**Morphology** De tipo epitelial**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** LS513 (número de catálogo Cytion 300457)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1386**Dados biomoleculares****Protein expression** CEA+ (50%), p53+**Antigen expression** Antígeno carcinoembrionário (CEA), ICAM-1, HLA classe I positivo**Tumorigenic** Sim, forma tumores em ratinhos nus**Products** Fator de crescimento transformador beta 1 (TGF beta-1, 83 pg por 10 células exp6 por 24 horas)**Karyotype** Podem distinguir-se duas linhas de caule. A principal estava representada em 65% das células, com um número modal de 51,xY e 3 marcadores, M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3, e uma monossomia 15. A segunda linha estaminal tinha um número cromossômico modal de 52,xY e apresentava M2 e M3 mais um isocromossoma para o braço longo do cromossoma 1 chamado M4. Uma trissomia 5,7, uma tetrassomia 13 e uma monossomia 2 e 3 estavam presentes em todas as células analisadas; a linha não apresentava a monossomia 15.**Manuseamento****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820400a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS

Células LS513 | 300457**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** 1×10^4 células/cm²**Fluid renewal** A cada 3 dias**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células LS513 | 300457

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células LS513 | 300457

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Alelos 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