

Células LS174T | 300392**Informações gerais****Description**

A linha de células LS147T é uma variante da LS-180, ambas derivadas de um adenocarcinoma do cólon do tipo B de Duke numa doente branca de 58 anos. A linha LS-180 original foi estabelecida através da cultura do tecido tumoral picado durante 10 meses. A LS-147T, tal como a sua linha-mãe, é notável pela expressão de múltiplos oncogenes, incluindo myc, myb, ras e fos, sendo negativa para outros como sis, abl e ros. Esta linha também expressa níveis elevados de antigénio carcinoembrionário (CEA), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 10 (IL-10), que são marcadores importantes e alvos potenciais na investigação do cancro colorrectal.

Estas células apresentam várias caraterísticas-chave das células epiteliais do cólon, incluindo microvilosidades abundantes e vacúolos de mucina intracitoplasmáticos, que são caraterísticas tipicamente associadas a células secretoras na mucosa do cólon. Estudos de microscopia eletrónica confirmaram estes pormenores estruturais, apoiando ainda mais a sua origem e estatuto de diferenciação. É importante notar que as células LS-147T demonstraram ser tumorigénicas em ratinhos imunodeprimidos, produzindo tumores de forma consistente quando inoculadas por via subcutânea a altas densidades celulares, afirmando assim o seu potencial maligno.

Além disso, a linha celular LS-147T é particularmente valiosa em estudos centrados nos aspectos moleculares e imunológicos do cancro colorrectal. Foi referido que esta linha é mais fácil de subcultivar em comparação com a sua linha-mãe, LS-180, o que a torna uma escolha mais prática para estudos a longo prazo. A produção robusta de CEA por estas células, que é significativamente mais elevada do que a de outras linhas estabelecidas, como a HT-29, faz da LS-147T um modelo essencial para a compreensão da dinâmica dos marcadores tumorais e para a exploração de terapias orientadas no cancro colorrectal.

Organism Humano**Tissue** Cólon**Disease** Adenocarcinoma**Synonyms** Ls174T, LS174t, Ls-174-T, LS-174-T, LS 174 T, LS174T, Ls-174T, LS 174T, LS-174, LS174**Caraterísticas****Age** 58 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Caucasiano**Morphology** De tipo epitelial**Growth properties** Aderente

Células LS174T | 300392**Dados regulamentares**

Citation	LS174T (número de catálogo Cytion 300392)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1384

Dados biomoleculares

Protein expression	Antigénio do cólon 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, expressão do ARNm +
Antigen expression	HLA A2, B13, B50, tipo sanguíneo 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	Sim, em ratinhos nus
Reverse transcriptase	Negativo
Products	Antigénio carcinoembrionário (CEA) 1944 ng/106 células em 10 dias, mucina, interleucina-10 (IL-10), interleucina-6 (IL-6)
Mutational profile	As células LS-174T são portadoras de uma mutação no códon 12 do gene Kras: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)
Karyotype	45,x com um cromossoma x em falta mas sem outras aberrações cromossómicas

Manuseamento

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO ₃ , com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA

Células LS174T | 300392**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** 5 a 8×10^4 células/cm²**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**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 LS174T | 300392

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, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado 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 LS174T | 300392

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*: '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