

Celule LS174T | 300392

Informații generale

Description

Linia celulară LS174T este o variantă a LS-180, ambele fiind derivate dintr-un adenocarcinom de colon Duke de tip B la o pacientă albă în vârstă de 58 de ani. Linia LS-180 originală a fost stabilită prin cultivarea țesutului tumoral tocat timp de 10 luni. LS-174T, împreună cu linia parentală, se remarcă prin exprimarea mai multor oncogene, inclusiv myc, myb, ras și fos, fiind în același timp negativ pentru altele, precum sis, abl și ros. Această linie exprimă, de asemenea, niveluri ridicate de antigen carcinoembrionar (CEA), interleukină 6 (IL-6) și interleukină 10 (IL-10), care sunt markeri importanți și ținte potențiale în cercetarea cancerului colorectal.

Aceste celule prezintă mai multe caracteristici cheie ale celulelor epiteliale colonice, inclusiv microvilli abundente și vacuole intracitoplasmice de mucină, care sunt caracteristici asociate în mod tipic cu celulele secretoare din mucoasa colonică. Studiile de microscopie electronică au confirmat aceste detalii structurale, susținând în continuare originea și statutul lor de diferențiere. În mod important, celulele LS-174T s-au dovedit a fi tumorigene la șoarecii imunodeprivați, producând în mod constant tumori atunci când sunt inoculate subcutanat la densități celulare ridicate, afirmând astfel potențialul lor malign.

În plus, linia celulară LS-174T este deosebit de valoroasă în studiile axate pe aspectele moleculare și imunologice ale cancerului colorectal. S-a raportat că această linie este mai ușor de subcultivat în comparație cu linia sa mamă, LS-180, ceea ce o face o alegere mai practică pentru studiile pe termen lung. Producția robustă de CEA de către aceste celule, care este semnificativ mai mare decât cea a altor linii stabilite precum HT-29, face din LS-174T un model esențial pentru înțelegerea dinamicii markerilor tumorali și explorarea terapiilor țintite în cancerul colorectal.

Organism

Om

Tissue

Colon

Disease

Adenocarcinom

Synonyms

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

Caracteristici

Age

58 de ani

Gender

Femei

Ethnicity

Caucazian

Morphology

De tip epitelial

Growth properties

Aderent

Celule LS174T | 300392

Date de reglementare

Citation	LS174T (număr de catalog Cytion 300392)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1384

Date biomoleculare

Protein expression	Antigen de colon 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, expresia ARNm +
Antigen expression	HLA A2, B13, B50, Grupa de sânge 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	Da, la șoareci nude
Reverse transcriptase	Negativ
Products	Antigen carcinoembrionar (CEA) 1944 ng/106 celule în 10 zile, mucină, interleukină-10 (IL-10), interleukină-6 (IL-6)
Mutational profile	Celulele LS-174T prezintă o mutație în codonul 12 al genei Kras: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)
Karyotype	45,x cu un cromozom x lipsă, dar fără alte aberații cromozomiale

Manipulare

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamină, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (număr articol Cytion 820100a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS și 1% NEAA

Celule LS174T | 300392

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Seeding density 5 până la 8×10^4 celule/cm²

Fluid renewal de 2 până la 3 ori pe săptămână

Post-Thaw Recovery După decongelare, plasați celulele la 5×10^4 celule/cm² și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 de ore.

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule LS174T | 300392

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule LS174T | 300392

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Alele 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