

LS513-celler | 300457

Allmän information

Description

Cellinjen LS513 är en välkarakteriserad modell för kolorektal cancer som härrör från en primär tumörbiopsi som togs 1985 från en 63-årig kaukasisk manlig patient. Tumören klassificerades som en Dukes C-mucinutsöndrande cecal cancer lokaliserad vid Bauhin-ventilen. LS513-celler är vidhäftande till sin natur och har visat multiresistens (MDR), vilket gör dem till en värdefull modell för att studera läkemedelsresistensmekanismer vid kolorektal cancer. Dessa celler uppvisar en 30-procentig kolonibildande effektivitet i metylcellulosa och är tumörbildande i nakna möss, vilket ytterligare bekräftar deras användning i onkogen studier.

På genetisk nivå uppvisar LS513-celler flera anmärkningsvärda egenskaper. De är positiva för p53-vildtyp-onkogenen och uttrycker karcinoembryonalt antigen (CEA) på cirka 50 % av cellerna. Dessutom uttrycker LS513-celler major histocompatibility complex (MHC) klass I-antigener, inklusive HLA och beta 2-mikroglobulin, men saknar MHC klass II-antigener (HLA-DR, DQ och DP). Cellerna producerar också transformeringstillväxtfaktor beta 1 (TGF beta-1) med en hastighet av 83 pg per 10^6 celler per 24 timmar. Det är värt att notera att TGF beta-1 fungerar som en hämmare av LS513-cellernas proliferation, medan TGF beta-2 inte har någon signifikant effekt på deras tillväxt. Jämfört med LS1034-cellinjen är LS513-cellerna 100 gånger mindre känsliga för TGF beta-1, vilket indikerar olika responser på tillväxtfaktorsignalering mellan dessa två kolorektala karcinommodeller.

LS513-celler uppvisar en unik profil av antigenuttryck, med stark positivitet för intercellulärt adhesionsmolekyl 1 (ICAM-1) och HLA klass I-antigener. Avsaknaden av MHC klass II-antigenuttryck är särskilt anmärkningsvärt, eftersom det tyder på potentiella immunundvikande mekanismer som kan vara relevanta för kolorektal cancerprogression och metastasering. Dessa egenskaper, tillsammans med deras resistens mot flera läkemedel och deras förmåga att bilda tumörer i immunförsvarsvaga möss, gör LS513-celler till ett kraftfullt verktyg för att studera de molekylära och cellulära grunderna för kolorektal cancer, särskilt i sammanhanget av immuninteraktioner och terapeutisk resistens.

Organism	Människan
Tissue	Kolorektal
Disease	Adenocarcinom
Synonyms	LS513, LS 513

Egenskaper

Age	63 år
Gender	Man
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitelliknande

LS513-celler | 300457

Growth properties	Följsam
--------------------------	---------

Lagstadgade uppgifter

Citation	LS513 (Cytion katalognummer 300457)
-----------------	-------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1386
-----------------------------	-----------

Biomolekylära data

Protein expression	CEA+ (50 %), p53+
---------------------------	-------------------

Antigen expression	Carcinoembryonalt antigen (CEA), ICAM-1, HLA klass I-positiv
---------------------------	--------------------------------------------------------------

Tumorigenic	Ja, bildar tumörer i nakna möss
--------------------	---------------------------------

Products	Transforming growth factor beta 1 (TGF beta-1, 83 pg per 10 exp6-celler per 24 timmar)
-----------------	----------------------------------------------------------------------------------------

Karyotype	Två stamlinjer kan urskiljas. Den huvudsakliga fanns representerad i 65% av cellerna, med ett modalt antal på 51,X,Y och 3 markörer, M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3, och en monosomi 15. Den andra stamlinjen hade ett modalt kromosomnummer på 52,X,Y och uppvisade M2 och M3 samt en isokromosom för den långa armen av kromosom 1 kallad M4. En trisomi 5,7, en tetrasomi 13 och en monosomi 2 och 3 fanns i alla de analyserade cellerna, men linjen uppvisade inte monosomi 15.
------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Hantering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glukos, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820400a)
-----------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
--------------------	--------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

LS513-celler | 300457

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio Ett förhållande på 1:3 till 1:4 rekommenderas

Seeding density 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal Var 3:e dag

Post-Thaw Recovery Efter upptining, plattlägg cellerna med 5×10^4 celler/cm² och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.

Freeze medium Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryounducerad stress.

LS513-celler | 300457

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

LS513-celler | 300457

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

STR-profil

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

HLA-alleler

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