

**Bunky LS180 | 305823****Všeobecné informácie****Description**

LS180 je ľudská bunková línia adenokarcinómu hrubého čreva vytvorená z primárneho nádoru dospelkej pacientky so stredne dobre diferencovaným adenokarcinómom hrubého čreva, ktorý metastázoval do perikolického tukového tkaniva. Morfológia buniek je epitelová, majú oválny až polygonálny tvar a priemer od 20 do 40 µm. Vykazujú ultraštruktúrne charakteristiky typické pre normálne bunky sliznice hrubého čreva vrátane hojných mikrokľkov - obzvlášť výrazných v sekrečných bunkách - a prítomnosti intracytoplazmatických mucínových vakuol. Tieto bunky vykazujú charakteristické znaky neoplázie vrátane vysokej produkcie karcinoembryonálneho antigénu (CEA) a schopnosti tvoriť nádory v lícnych vakoch škrečkov a imunodeficientných myši, čo poukazuje na ich nádorový potenciál in vivo.

Bunky LS180 sa vyznačovali mimoriadne vysokou produkciou CEA, pričom uvoľňovali približne 900-krát viac CEA na bunku do kultivačného média a niesli 30-krát viac CEA asociovaného s bunkou ako iné línie rakoviny hrubého čreva, napríklad HT-29. To robí z LS180 cenný model na štúdium biochemických, imunologických a funkčných vlastností neoplastického epitelu hrubého čreva, najmä vo vzťahu k nádorovým markerom spojeným s CEA. Bunky boli karyotypizované a potvrdilo sa, že majú abnormálne chromozómové komplexy zodpovedajúce neoplastickej transformácii. Ich epitelová identita a nádorové vlastnosti ich predurčujú na použitie v imunologických testoch, pri skríningu liekov a v štúdiách biológie kolorektálneho karcinómu a terapeutickej odpovede.

Okrem toho je LS180 súčasťou encyklopédie rakovinových bunkových línií (Cancer Cell Line Encyclopedia - CCLE), kde bola dôkladne charakterizovaná prostredníctvom multiomického profilovania vrátane proteomiky, transkriptomiky a údajov o mutáciách. LS180 je klasifikovaná ako mikrosatelitne nestabilná (MSI) bunková línia, čo je fenotyp spojený s hypermutovaným genómom a známy tým, že ovplyvňuje organizáciu proteómu a terapeutickú zraniteľnosť. Proteomická analýza LS180 odhalila, že bunkové línie MSI vrátane LS180 vykazujú významnú dysreguláciu proteínových komplexov zapojených do dohľadu nad mutáciami a kontroly translácie, čo ponúka pohľad na mechanizmy citlivosti a rezistencie na lieky. Proteomické údaje ďalej potvrdzujú, že rozsiahla koordinácia na úrovni dráh v expresii proteínov v LS180 je oddelená od expresie RNA, čo zdôrazňuje význam priameho skúmania na úrovni proteínov.

**Organism**      Ľudské**Tissue**            Colon**Disease**            Adenokarcinóm**Synonyms**        LS-180, LS 180, Laboratórium chirurgie 180**Charakteristika****Age**                58 rokov**Gender**            Ženy**Ethnicity**         Kaukazský

**Bunky LS180 | 305823****Cell type** Epitelová bunka hrubého čreva**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** LS180 (katalógové číslo Cytion 305823)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0397**Biomolekulárne údaje****Antigen expression** Sérologicky definovaný antigén 3 rakoviny hrubého čreva; Homo sapiens, exprimovaný HLA A2, B13, B50; krvná skupina O**Isoenzymes** ADA, 1 ES-D, 1 G6PD, B PEP-D, 1 PGD, A PGM1, 1 PGM3, 2**Tumorigenic** Áno; Áno, na nahých myšiach**Mutational profile** Mutácia: ACVR2A, Simple, p.Lys437Argfs\*5 (c.1310delA), homozygotná, mutácia, CTNNB1, Simple, p.Ser45Phe (c.134C>T), homozygotná, KRAS, Simple, p.Gly12Asp (c.35G>A), heterozygotná. Mutácia, PIK3CA, Simple, p.His1047Arg (c.3140A>G), nešpecifikovaná Mutácia, TGFBR2, Simple, p.Lys128Serfs\*35 (c.383delA), homozygotná; mutácia, TP53**Karyotype** Modálne číslo = 45; rozsah = 42 až 47.**Spracovanie****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase

**Bunky LS180 | 305823****Doubling time** 72 hodín**Freeze medium**

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation Atmosphere**37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, zvlhčená atmosféra.**Shipping Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky LS180 | 305823

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.