

Bunky LS513 | 300457**Všeobecné informácie****Description**

Bunka LS513 je dobre charakterizovaný model kolorektálneho karcinómu odvodený z biopsie primárneho nádoru odobratej v roku 1985 u 63-ročného kaukazského pacienta. Nádor bol klasifikovaný ako Duksov C mucín-sekrečný karcinóm slepého čreva lokalizovaný v Bauhinovej chlopni. Bunky LS513 sú adhezívne a vykazujú multirezistenciu na lieky (MDR), čo z nich robí cenný model na štúdium mechanizmov rezistencie na lieky pri kolorektálnom karcinóme. Tieto bunky vykazujú 30 % účinnosť tvorby kolónií v metylcelulóze a sú tumorigenické u nahých myší, čo ďalej potvrdzuje ich použitie v onkogénnych štúdiách.

Na genetickej úrovni vykazujú bunky LS513 niekoľko pozoruhodných vlastností. Sú pozitívne na onkogén p53 divokého typu a exprimujú karcinoembryonálny antigén (CEA) na približne 50 % buniek. Okrem toho bunky LS513 exprimujú antigény hlavného histokompatibilného komplexu (MHC) triedy I, vrátane HLA a beta 2 mikroglobulínu, ale nemajú antigény MHC triedy II (HLA-DR, DQ a DP). Bunky tiež produkujú transformujúci rastový faktor beta 1 (TGF beta-1) v množstve 83 pg na 10^6 buniek za 24 hodín. Je zaujímavé, že TGF beta-1 pôsobí ako inhibítor proliferácie buniek LS513, zatiaľ čo TGF beta-2 nemá žiadny významný vplyv na ich rast. V porovnaní s bunkovou líniou LS1034 sú bunky LS513 100-krát menej citlivé na TGF beta-1, čo naznačuje odlišné reakcie na signály rastového faktora medzi týmito dvoma modelmi kolorektálneho karcinómu.

Bunky LS513 vykazujú jedinečný profil expície antigénov, s výraznou pozitivitou na intercelulárnu adhéziu molekulu 1 (ICAM-1) a antigény HLA triedy I. Zvlášť pozoruhodná je absencia expície antigénov MHC triedy II, ktorá naznačuje potenciálne mechanizmy imunitného úniku, ktoré by mohli byť relevantné pre progresiu a metastázovanie kolorektálneho karcinómu. Tieto vlastnosti, spolu s ich rezistenciou voči viacerým liekom a schopnosťou tvoriť nádory u imunokompromitovaných myší, robia z buniek LS513 mocný nástroj na štúdium molekulárnych a bunkových základov kolorektálneho karcinómu, najmä v kontexte imunitných interakcií a terapeutickú rezistencie.

Organism	Ľudské
Tissue	Kolorektálny
Disease	Adenokarcinóm
Synonyms	LS513, LS 513

Charakteristika

Age	63 rokov
Gender	Muži
Ethnicity	Kaukazský
Morphology	Epitelu podobné

Bunky LS513 | 300457**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** LS513 (katalógové číslo Cytion 300457)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1386**Biomolekulárne údaje****Protein expression** CEA+ (50 %), p53+**Antigen expression** Pozitívny karcinoembryonálny antigén (CEA), ICAM-1, HLA triedy I**Tumorigenic** Áno, vytvára nádory u nahých myší**Products** Transformujúci rastový faktor beta 1 (TGF beta-1, 83 pg na 10 exp6 buniek za 24 hodín)**Karyotype** Rozlišujú sa dve línie kmeňa. Hlavná bola zastúpená v 65 % buniek, s modálnym počtom 51,xY a 3 markermi, M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3 a monozómiou 15. Druhá kmeňová línia mala modálne číslo chromozómu 52,xY a predstavovala M2 a M3 plus izochromozóm pre dlhé rameno chromozómu 1 s názvom M4. Trisómia 5,7, tetrasómia 13 a monozómia 2 a 3 boli prítomné vo všetkých analyzovaných bunkách, línia nevykazovala monozómiu 15.**Spracovanie****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Bunky LS513 | 300457

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Seeding density 1×10^4 buniek/cm²

Fluid renewal Každé 3 dni

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 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.

Bunky LS513 | 300457**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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

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

**Shipping
Conditions**

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

Bunky LS513 | 300457

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.

Alely 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