

Bunky LS174T | 300392**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia LS147T je variantom LS-180, pričom obe pochádzajú z adenokarcinómu hrubého čreva typu B Duke u 58-ročnej pacientky bielej pleti. Pôvodná línia LS-180 vznikla kultiváciou zomletého nádorového tkaniva počas 10 mesiacov. LS-147T sa spolu s materskou líniou vyznačuje expresiou viacerých onkogénov vrátane myc, myb, ras a fos, pričom je negatívna pre iné, ako sú sis, abl a ros. Táto línia tiež exprimuje vysoké hladiny karcinoembryonálneho antigénu (CEA), interleukínu 6 (IL-6) a interleukínu 10 (IL-10), čo sú dôležité markery a potenciálne ciele vo výskume kolorektálneho karcinómu.

Tieto bunky vykazujú niekoľko kľúčových charakteristík epitelových buniek hrubého čreva vrátane hojných mikrokľvkov a intracytoplazmatických mucínových vakuol, čo sú vlastnosti typické pre sekrečné bunky v sliznici hrubého čreva. Štúdie elektrónovej mikroskopie potvrdili tieto štrukturálne detaily, čo ďalej podporuje ich pôvod a diferenciacny status. Dôležité je, že sa ukázalo, že bunky LS-147T sú tumorogénne u imunodeficientných myší, pričom pri subkutánnej inokulácii vo vysokej hustote buniek neustále vytvárajú nádory, čo potvrdzuje ich malígnu potenciál.

Okrem toho je bunková línia LS-147T mimoriadne cenná v štúdiách zameraných na molekulárne a imunologické aspekty kolorektálneho karcinómu. Uvádza sa, že táto línia sa v porovnaní so svojou materskou líniou LS-180 ľahšie subkultivuje, čo z nej robí praktickejšiu voľbu pre dlhodobé štúdie. Silná produkcia CEA týmito bunkami, ktorá je výrazne vyššia ako u iných zavedených línií, ako je HT-29, robí z LS-147T rozhodujúci model na pochopenie dynamiky nádorových markerov a skúmanie cielených terapií kolorektálneho karcinómu.

Organism

Ľudské

Tissue

Colon

Disease

Adenokarcinóm

Synonyms

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

Charakteristika**Age**

58 rokov

Gender

Ženy

Ethnicity

Kaukazský

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Adherent

Bunky LS174T | 300392**Regulačné údaje**

Citation	LS174T (katalógové číslo Cytion 300392)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1384

Biomolekulárne údaje

Protein expression	Colon Antigen 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, expresia mRNA +
Antigen expression	HLA A2, B13, B50, krvná skupina 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	Áno, na nahých myšiach
Reverse transcriptase	Negatívne
Products	Karcinoembryonálny antigén (CEA) 1944 ng/106 buniek za 10 dní, mucín, interleukín-10 (IL-10), interleukín-6 (IL-6)
Mutational profile	Bunky LS-174T nesú mutáciu v kodóne 12 génu Kras: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)
Karyotype	45,x s chýbajúcim jedným chromozómom x, ale bez iných chromozómových aberácií

Spracovanie

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA

Bunky LS174T | 300392**Dissociation Reagent** Accutase**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** 5 až 8×10^4 buniek/cm²**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**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 LS174T | 300392**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 % 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 °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 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky LS174T | 300392

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*: '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