

LS513 Celice | 300457

Splošne informacije

Description

Celična linija LS513 je dobro opisan model kolorektalnega karcinoma, pridobljen iz biopsije primarnega tumorja, odvzete leta 1985 63-letnemu belemu moškemu pacientu. Tumor je bil klasificiran kot Dukesov C mucin-sekrtirajoči celični karcinom, lociran na Bauhinovi zaklopki. Celice LS513 so po naravi adhezivne in so pokazale večkratno odpornost na zdravila (MDR), kar jih naredi dragocen model za preučevanje mehanizmov odpornosti na zdravila pri kolorektalnem raku. Te celice kažejo 30-odstotno učinkovitost pri tvorjenju kolonij v metilcelulozi in so tumorogene pri golih miših, kar dodatno potrjuje njihovo uporabo v onkogenih študijah.

Na genetski ravni celice LS513 izražajo več pomembnih značilnosti. So pozitivne za onkogen p53 divjega tipa in izražajo karcinoembrionalni antigen (CEA) na približno 50 % celic. Poleg tega celice LS513 izražajo antigene glavnega histokompatibilnega kompleksa (MHC) razreda I, vključno z HLA in beta 2 mikroglobulinom, vendar nimajo antigenov MHC razreda II (HLA-DR, DQ in DP). Celice proizvajajo tudi transformirajoči rastni faktor beta 1 (TGF beta-1) s hitrostjo 83 pg na 10^6 celic v 24 urah. Zlasti TGF beta-1 deluje kot zaviralec proliferacije celic LS513, medtem ko TGF beta-2 nima pomembnega vpliva na njihovo rast. V primerjavi s celično linijo LS1034 so celice LS513 100-krat manj občutljive na TGF beta-1, kar kaže na različne odzive na signalizacijo ravnega faktorja med tema dvema modeloma kolorektalnega karcinoma.

Celice LS513 kažejo edinstven profil izražanja antigenov, z močno pozitivnostjo za medcelično adhezijsko molekulo 1 (ICAM-1) in antigene HLA razreda I. Pomanjkanje izražanja antigenov MHC razreda II je še posebej pomembno, saj kaže na potencialne mehanizme izogibanja imunskemu odzivu, ki bi lahko bili pomembni za napredovanje kolorektalnega raka in metastaze. Te lastnosti, skupaj z njihovo odpornostjo na več zdravil in sposobnostjo tvorjenja tumorjev pri imunsko oslabljenih miših, delajo celice LS513 močno orodje za preučevanje molekularnih in celičnih osnov kolorektalnega raka, zlasti v kontekstu imunskih interakcij in terapevtske odpornosti.

Organism	Človek
Tissue	Kolorektalno
Disease	Adenokarcinom
Synonyms	LS513, LS 513

Značilnosti

Age	63 let
Gender	Moški
Ethnicity	Kavkaški
Morphology	Epitelijam podobni

LS513 Celice | 300457

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation LS513 (Cytionova kataloška številka 300457)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1386

Biomolekularni podatki

Protein expression CEA+ (50 %), p53+

Antigen expression Pozitiven karcinomembrionalni antigen (CEA), ICAM-1, HLA razreda I

Tumorigenic Da, tvori tumorje pri golih miših

Products Transformativni rastni faktor beta 1 (TGF beta-1, 83 pg na 10 celic exp6 v 24 urah)

Karyotype Ločimo dve liniji stebila. Glavna je bila zastopana v 65 % celic z modalnim številom 51,xY in tremi označevalci: M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3 in monosomija 15. Druga matična linija je imela modalno število kromosomov 52,xY in je imela M2 in M3 ter izohromosom za dolgo roko kromosoma 1, imenovan M4. V vseh analiziranih celicah so bile prisotne trisomija 5,7, tetrasomija 13 ter monosomija 2 in 3, linija pa ni imela monosomije 15.

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoze, w: 2,5 mM L-glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrijevega piruvata, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820400a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

LS513 Celice | 300457

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 1×10^4 celic/cm²

Fluid renewal Vsakih 3 dni

Post-Thaw Recovery Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel^{ic}/cm² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

LS513 Celice | 300457

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

LS513 Celice | 300457

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli 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