

Celice LS174T | 300392

Splošne informacije

Description

Celična linija LS147T je različica linije LS-180, obe pa sta pridobljeni iz adenokarcinoma debelega črevesa tipa B po Dukeu pri 58-letni beli bolnici. Izvirna linija LS-180 je bila vzpostavljena s kultivacijo razrezanega tumorskega tkiva 10 mesecev. LS-147T se skupaj z matično linijo odlikuje po izražanju številnih onkogenov, vključno z myc, myb, ras in fos, medtem ko je za druge, kot so sis, abl in ros, negativna. Ta linija izraža tudi visoko raven karcinoembrionalnega antigena (CEA), interlevkina 6 (IL-6) in interlevkina 10 (IL-10), ki so pomembni označevalci in potencialne tarče pri raziskavah kolorektalnega raka.

Te celice imajo več ključnih značilnosti epitelijskih celic debelega črevesa, vključno z obilnimi mikroviliji in intracitoplazemskimi mucinskimi vakuolami, ki so značilne za sekretorne celice v sluznici debelega črevesa. Študije elektronske mikroskopije so potrdile te strukturne podrobnosti, kar dodatno potrjuje njihov izvor in diferenciacijski status. Pomembno je, da so se celice LS-147T izkazale za tumorogene pri imunsko osiromašenih miših, pri čemer so ob subkutani inokulaciji z visoko gostoto celic dosledno proizvajale tumorje, kar potrjuje njihov maligni potencial.

Poleg tega je celična linija LS-147T še posebej dragocena v študijah, ki se osredotočajo na molekularne in imunološke vidike kolorektalnega raka. Poročali so, da je to linijo v primerjavi z matično linijo LS-180 lažje subkultivirati, zato je bolj praktična izbira za dolgoročne študije. Zaradi močne proizvodnje CEA v teh celicah, ki je bistveno višja kot pri drugih uveljavljenih linijah, kot je HT-29, je LS-147T pomemben model za razumevanje dinamike tumorskih označevalcev in raziskovanje ciljnih terapij pri kolorektalnem raku.

Organism

Človek

Tissue

Debelo črevo

Disease

Adenokarcinom

Synonyms

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

Značilnosti

Age

58 let

Gender

Ženske

Ethnicity

Kavkaški

Morphology

Epitelijam podobni

Growth properties

Pripadajoče

Celice LS174T | 300392

Regulativni podatki

Citation	LS174T (kataloška številka Cytion 300392)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1384

Biomolekularni podatki

Protein expression	Antigen debelega črevesa 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, ekspresija mRNA +
Antigen expression	HLA A2, B13, B50, krvna 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	Da, na golih miših
Reverse transcriptase	Negativni
Products	Karcinoembrionalni antigen (CEA) 1944 ng/106 celic v 10 dneh, mucin, interlevkin-10 (IL-10), interlevkin-6 (IL-6)
Mutational profile	Celice LS-174T imajo mutacijo v kodonu 12 gena Kras: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)
Karyotype	45,x z manjkajočim kromosomom x, vendar brez drugih kromosomskih aberacij

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA

Celice LS174T | 300392

Dissociation Reagent

Accutase

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 density5 do 8×10^4 celic/cm²**Fluid renewal**

2 do 3-krat na teden

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 (kataložka številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice LS174T | 300392

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 kriovial 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 kriovial 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.

Celice LS174T | 300392

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*: '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