

LS174T Hücreler | 300392

Genel bilgi

Description

LS147T hücre hattı LS-180'in bir varyantıdır ve her ikisi de 58 yaşında Beyaz bir kadın hastada kolonun Duke B tipi adenokarsinomundan türetilmiştir. Orijinal LS-180 hattı, kıyılmış tümör dokusunun 10 ay boyunca kültüre edilmesiyle oluşturulmuştur. LS-147T, ana hattı ile birlikte, sis, abl ve ros gibi diğerleri için negatif iken myc, myb, ras ve fos dahil olmak üzere çoklu onkogenleri eksprese etmesiyle dikkat çekmektedir. Bu hat aynı zamanda kolorektal kanser araştırmalarında önemli belirteçler ve potansiyel hedefler olan yüksek düzeyde karsinoembriyonik antijen (CEA), interlökin 6 (IL-6) ve interlökin 10 (IL-10) eksprese etmektedir.

Bu hücreler, tipik olarak kolon mukozasındaki salgı hücreleriyle ilişkili özellikler olan bol mikrovillus ve intrasitoplazmik müsin vakuolleri dahil olmak üzere kolon epitel hücrelerinin birkaç temel özelliğini sergilemektedir. Elektron mikroskobu çalışmaları bu yapısal ayrıntıları doğrulayarak kökenlerini ve farklılaşma durumlarını daha da desteklemiştir. Daha da önemlisi, LS-147T hücrelerinin bağışıklık sistemi baskılanmış farelerde tümörjenik olduğu ve yüksek hücre yoğunluklarında deri altına aşılandığında sürekli olarak tümör ürettiği gösterilmiş, böylece kötü huylu potansiyelleri teyit edilmiştir.

Ayrıca LS-147T hücre hattı, kolorektal kanserin moleküler ve immünolojik yönlerine odaklanan çalışmalarda özellikle değerlidir. Bu hattın, ana hattı olan LS-180'e kıyasla daha kolay alt kültüre alınabildiği ve uzun vadeli çalışmalar için daha pratik bir seçim olduğu bildirilmiştir. Bu hücreler tarafından CEA'nın HT-29 gibi diğer yerleşik hatlardan önemli ölçüde daha yüksek olan güçlü üretimi, LS-147T'yi tümör belirteç dinamiklerini anlamak ve kolorektal kanserde hedefe yönelik tedavileri araştırmak için kritik bir model haline getirmektedir.

Organism

İnsan

Tissue

Kolon

Disease

Adenokarsinom

Synonyms

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

Özellikler

Age

58 yıl

Gender

Kadın

Ethnicity

Kafkas

Morphology

Epitel benzeri

Growth properties

Yapışık

LS174T Hücreler | 300392

Düzenleyici Veriler

| | |
|-----------------------------|---|
| Citation | LS174T (Cytion katalog numarası 300392) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_1384 |

Biyomoleküler Veriler

| | |
|------------------------------|---|
| Protein expression | Kolon Antijeni 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, mRNA ekspresyonu + |
| Antigen expression | HLA A2, B13, B50, Kan grubu 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 | Evet, çıplak farelerde |
| Reverse transcriptase | Negatif |
| Products | Karsinoembriyonik antijen (CEA) 10 günde 1944 ng/106 hücre, müsin, interlökin-10 (IL-10), interlökin-6 (IL-6) |
| Mutational profile | LS-174T hücreleri Kras geninin 12. kodonunda bir mutasyon taşımaktadır: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp) |
| Karyotype | 45,x bir x kromozomu eksik ancak başka kromozomal sapma yok |

Elleçleme

| | |
|-----------------------|--|
| Culture Medium | EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion makale numarası 820100a) |
| Supplements | Ortamı %10 FBS ve %1 NEAA ile takviye edin |

LS174T Hücreler | 300392

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

Seeding density 5 ila 8×10^4 hücre/cm²

Fluid renewal haftada 2 ila 3 kez

Post-Thaw Recovery Çözüldükten sonra, hücreleri 5×10^4 hücre/cm² olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.

Freeze medium Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

LS174T Hücreler | 300392

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

LS174T Hücreler | 300392

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

HLA alelleri

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