

## Клітини LS513 | 300457

## Загальна інформація

## Description

Клітинна лінія LS513 є добре охарактеризованою моделлю колоректального раку, отриманою з біопсії первинної пухлини, взятої в 1985 році у 63-річного пацієнта європейської раси. Пухлина була класифікована як муциносекретуючий рак сліпої кишки стадії С за класифікацією Дюка, розташований у клапані Баугіна. Клітини LS513 мають адгезивну природу і продемонстрували мультирезистентність до ліків (MDR), що робить їх цінною моделлю для вивчення механізмів резистентності до ліків при колоректальному раку. Ці клітини виявляють 30% ефективність колонієутворення в метилцелюлозі і є пухлиногенними у голих мишей, що ще більше підтверджує їх використання в онкогенних дослідженнях.

На генетичному рівні клітини LS513 виявляють кілька помітних особливостей. Вони позитивні за онкогеном р53 дикого типу і експресують карциноембріональний антиген (CEA) приблизно на 50% клітин. Крім того, клітини LS513 експресують антигени головного комплексу гістосумісності (МНС) класу I, включаючи HLA і бета-2-мікроглобулін, але не мають антигенів МНС класу II (HLA-DR, DQ і DP). Клітини також продукують трансформуючий фактор росту бета-1 (TGF бета-1) зі швидкістю 83 пг на  $10^6$  клітин за 24 години. Примітно, що TGF бета-1 діє як інгібітор проліферації клітин LS513, тоді як TGF бета-2 не має значного впливу на їх ріст. У порівнянні з клітинною лінією LS1034, клітини LS513 в 100 разів менш чутливі до TGF бета-1, що вказує на різні реакції на сигналізацію факторів росту між цими двома моделями колоректального раку.

Клітини LS513 демонструють унікальний профіль експресії антигенів, з сильною позитивністю до міжклітинної молекули адгезії 1 (ICAM-1) та антигенів HLA класу I. Особливо варто відзначити відсутність експресії антигенів МНС класу II, оскільки це вказує на потенційні механізми уникнення імунної відповіді, які можуть бути пов'язані з прогресуванням колоректального раку та метастазуванням. Ці особливості, а також резистентність до багатьох ліків і здатність утворювати пухлини в імунокомпрометованих мишей, роблять клітини LS513 потужним інструментом для вивчення молекулярних і клітинних основ колоректального раку, особливо в контексті імунних взаємодій і терапевтичної резистентності.

<b>Organism</b>	Людина
<b>Tissue</b>	Колоректальний
<b>Disease</b>	Аденокарцинома
<b>Synonyms</b>	LS513, LS 513

## Характеристики

<b>Age</b>	63 роки
<b>Gender</b>	Чоловік
<b>Ethnicity</b>	Кавказець

## Клітини LS513 | 300457

**Morphology** Епітеліальноподібні

**Growth properties** Адепт

## Нормативні дані

**Citation** LS513 (номер за каталогом Cytion 300457)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1386

## Біомолекулярні дані

**Protein expression** CEA+ (50%), p53+

**Antigen expression** Карциноембріональний антиген (CEA), ICAM-1, HLA класу I позитивний

**Tumorigenic** Так, утворює пухлини у голих мишей

**Products** Трансформуючий фактор росту бета-1 (TGF бета-1, 83 пг на 10 клітин експб за 24 години)

**Karyotype** Можна виділити дві стовбурові лінії. Основна була представлена у 65% клітин, з модальним числом 51,хУ та 3 маркерами: M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3 та моносомією 15. Друга стовбурова лінія мала модальне число хромосом 52,хУ і представляла M2 і M3 плюс ізохромосому довгого плеча хромосоми 1 під назвою M4. Трисомія 5,7, тетрасомія 13 і моносомія 2 і 3 були присутні у всіх проаналізованих клітинах, лінія не мала моносомії 15.

## Обробка

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 г/л Глюкоза, w: 2,5 мМ L-глутамін, w: 15 мМ HEPES, w: 0,5 мМ Піруват натрію, w: 1,2 г/л NaHCO<sub>3</sub> (цит. номер 820400a)

**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS

**Dissociation Reagent** Аккутаза

## Клітини LS513 | 300457

**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Кожні 3 дні

**Post-Thaw Recovery** Після розморожування висійте клітини з щільністю  $5 \times 10^4$  клітин/см<sup>2</sup> і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

**Freeze medium** Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

## Клітини LS513 | 300457

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

**Flask Coating**

Ні

**Freezing  
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

## Клітини LS513 | 300457

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

### HLA алелі

**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