

Елементи LS174T | 300392

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія LS147T є варіантом лінії LS-180, обидві лінії отримані з аденокарциноми товстої кишки типу В Дьюка у 58-річної білої пацієнтки. Оригінальна лінія LS-180 була створена шляхом культивування подрібненої пухлинної тканини протягом 10 місяців. LS-147T, як і її батьківська лінія, відрізняється експресією багатьох онкогенів, включаючи *тус*, *туб*, *ras* і *fos*, але є негативною до інших, таких як *sis*, *abl* і *ros*. Ця лінія також експресує високі рівні карциноембріонального антигену (CEA), інтерлейкіну 6 (IL-6) та інтерлейкіну 10 (IL-10), які є важливими маркерами та потенційними мішенями в дослідженнях колоректального раку.

Ці клітини мають кілька ключових характеристик епітеліальних клітин товстої кишки, включаючи рясні мікроворсинки та інтрацитоплазматичні муцинові вакуолі, які зазвичай асоціюються з секреторними клітинами слизової оболонки товстої кишки. Електронно-мікроскопічні дослідження підтвердили ці структурні деталі, додатково підтвердивши їх походження та статус диференціювання. Важливо, що клітини LS-147T виявилися туморогенними у мишей з імунодефіцитом, постійно утворюючи пухлини при підшкірному введенні з високою щільністю клітин, що підтверджує їх злоякісний потенціал.

Крім того, клітинна лінія LS-147T є особливо цінною в дослідженнях, що зосереджені на молекулярних та імунологічних аспектах колоректального раку. Повідомляється, що цю лінію легше субкультивувати порівняно з її батьківською лінією LS-180, що робить її більш практичним вибором для довгострокових досліджень. Потужна продукція CEA цими клітинами, яка значно вища, ніж у інших відомих ліній, таких як HT-29, робить LS-147T критично важливою моделлю для розуміння динаміки пухлинних маркерів і вивчення таргетованої терапії колоректального раку.

Organism

Людина

Tissue

Двоєточие

Disease

Аденокарцинома

Synonyms

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

Характеристики

Age

58 років

Gender

Жінка

Ethnicity

Кавказець

Morphology

Епітеліальноподібні

Growth properties

Адепт

Елементи LS174T | 300392

Нормативні дані

Citation	LS174T (номер за каталогом Cytion 300392)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1384

Біомолекулярні дані

Protein expression	Антиген товстої кишки 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, експресія мРНК +
Antigen expression	HLA A2, B13, B50, група крові O
Isoenzymes	ADA, 1: G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 2, PGD, A, ES-D, 1, PEP-D, 1
Oncogenes	Мус +, myb +, ras +, fos +, p53 +, sis -, abl -, ros -, src -
Tumorigenic	Так, у голих мишей
Reverse transcriptase	Негативно
Products	Карциномембранальний антиген (CEA) 1944 нг/106 клітин через 10 днів, муцин, інтерлейкін-10 (IL-10), інтерлейкін-6 (IL-6)
Mutational profile	Клітини LS-174T несуть мутацію в кодоні 12 гена Kras: GGT(Wt Gly) >GAT(Asp)
Karyotype	45,х з відсутністю однієї X-хромосоми, але без інших хромосомних аберацій

Обробка

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 мМ L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO ₃ , w: EBSS (цит. номер 820100a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA

Елементи LS174T | 300392

Dissociation Reagent

Аккутаза

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 densityВід 5 до 8×10^4 клітин/см²**Fluid renewal**

2-3 рази на тиждень

Post-Thaw Recovery

Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^4 клітин/см² 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.

Елементи LS174T | 300392

**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°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°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°C , 5% 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°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Елементи LS174T | 300392

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, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

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