

Células LS513 | 300457**Informações gerais****Description**

A linhagem celular LS513 é um modelo bem caracterizado de carcinoma colorretal, derivado de uma biópsia de tumor primário realizada em 1985 em um paciente do sexo masculino, de etnia caucasiana, com 63 anos de idade. O tumor foi classificado como um carcinoma cecal secretor de mucina, de estágio C de Dukes, localizado na válvula de Bauhin. As células LS513 são de natureza aderente e demonstraram resistência a múltiplas drogas (MDR), o que as torna um modelo valioso para o estudo dos mecanismos de resistência a medicamentos no câncer colorretal. Essas células apresentam uma eficiência de formação de colônias de 30% em metilcelulose e são tumorigênicas em camundongos nude, o que valida ainda mais seu uso em estudos oncogênicos.

No nível genético, as células LS513 apresentam várias características notáveis. Elas são positivas para o oncogene p53 do tipo selvagem e expressam o antígeno carcinoembrionário (CEA) em aproximadamente 50% das células. Além disso, as células LS513 expressam antígenos do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) de classe I, incluindo HLA e beta-2-microglobulina, mas não apresentam antígenos do MHC de classe II (HLA-DR, DQ e DP). As células também produzem o fator de crescimento transformador beta 1 (TGF-beta-1) a uma taxa de 83 pg por 10⁶ células a cada 24 horas. Notavelmente, o TGF-beta-1 atua como um inibidor da proliferação das células LS513, enquanto o TGF-beta-2 não tem efeito significativo sobre o crescimento delas. Em comparação com a linhagem celular LS1034, as células LS513 são 100 vezes menos sensíveis ao TGF-beta-1, indicando respostas distintas à sinalização de fatores de crescimento entre esses dois modelos de carcinoma colorretal.

As células LS513 apresentam um perfil único de expressão de antígenos, com forte positividade para a molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1) e antígenos HLA de classe I. A ausência de expressão de antígenos MHC de classe II é particularmente digna de nota, pois sugere possíveis mecanismos de evasão imunológica que poderiam ser relevantes para a progressão e metástase do câncer colorretal. Essas características, juntamente com sua resistência a múltiplos medicamentos e sua capacidade de formar tumores em camundongos imunocomprometidos, tornam as células LS513 uma ferramenta poderosa para o estudo dos fundamentos moleculares e celulares do câncer colorretal, especialmente no contexto das interações imunológicas e da resistência terapêutica.

Organism Humano**Tissue** Colorretal**Disease** Adenocarcinoma**Synonyms** LS513, LS 513**Características****Age** 63 anos**Gender** Masculino**Ethnicity** caucasiano

Células LS513 | 300457**Morphology** De tipo epitelial**Growth properties** Aderente**Dados regulatórios****Citation** LS513 (número de catálogo da Cytion 300457)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1386**Dados biomoleculares****Protein expression** CEA+ (50%), p53+**Antigen expression** Antígeno carcinoembrionário (CEA), ICAM-1, HLA classe I positivo**Tumorigenic** Sim, forma tumores em camundongos nude**Products** Fator de crescimento transformador beta 1 (TGF beta-1, 83 pg por 10 exp6 células por 24 horas)**Karyotype** É possível distinguir duas linhagens. A principal estava presente em 65% das células, com um número modal de 51,xY e 3 marcadores: M1 - der(1)t(1,15), M2 - der(2)t(2,3)der(3)t(2,3), M3 e uma monossomia 15. A segunda linhagem tinha um número modal de cromossomos de 52,xY e apresentava M2 e M3, além de um isocromossomo para o braço longo do cromossomo 1, denominado M4. Uma trissomia 5,7, uma tetrasomia 13 e uma monossomia 2 e 3 estavam presentes em todas as células analisadas; a linhagem não apresentou monossomia 15.**Manuseio****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), p/v: 3,1 g/L de glicose, p/v: 2,5 mM de L-glutamina, p/v: 15 mM de HEPES, peso: 0,5 mM de piruvato de sódio, peso: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo da Cytion 820400a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio

Células LS513 | 300457**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** 1×10^4 células/cm²**Fluid renewal** A cada 3 dias**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se adiram por pelo menos 24 horas.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células LS513 | 300457

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células LS513 | 300457

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.