

**Células LS174T | 300392****Informações gerais****Description**

A linhagem celular LS147T é uma variante da LS-180; ambas são derivadas de um adenocarcinoma de cólon do tipo B de Duke, proveniente de uma paciente branca de 58 anos. A linhagem LS-180 original foi estabelecida por meio da cultura do tecido tumoral picado durante 10 meses. A LS-147T, assim como sua linha-mãe, destaca-se pela expressão de múltiplos oncogenes, incluindo myc, myb, ras e fos, ao mesmo tempo em que apresenta resultados negativos para outros, como sis, abl e ros. Essa linhagem também expressa altos níveis de antígeno carcinoembrionário (CEA), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 10 (IL-10), que são marcadores importantes e alvos potenciais na pesquisa do câncer colorretal.

Essas células apresentam várias características-chave das células epiteliais do cólon, incluindo microvilosidades abundantes e vacúolos de mucina intracitoplasmáticos, que são características tipicamente associadas às células secretoras da mucosa colônica. Estudos de microscopia eletrônica confirmaram esses detalhes estruturais, reforçando ainda mais sua origem e estado de diferenciação. É importante ressaltar que as células LS-147T demonstraram ser tumorigênicas em camundongos imunodeprimidos, produzindo tumores de forma consistente quando inoculadas por via subcutânea em altas densidades celulares, confirmando assim seu potencial maligno.

Além disso, a linhagem celular LS-147T é particularmente valiosa em estudos focados nos aspectos moleculares e imunológicos do câncer colorretal. Foi relatado que essa linhagem é mais fácil de subcultivar em comparação com sua linhagem-mãe, a LS-180, tornando-a uma opção mais prática para estudos de longo prazo. A produção robusta de CEA por essas células, que é significativamente maior do que a de outras linhagens estabelecidas, como a HT-29, torna a LS-147T um modelo essencial para compreender a dinâmica dos marcadores tumorais e explorar terapias direcionadas no câncer colorretal.

**Organism**

Humano

**Tissue**

Dois pontos

**Disease**

Adenocarcinoma

**Synonyms**

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

**Características****Age**

58 anos

**Gender**

Mulher

**Ethnicity**

caucasiano

**Morphology**

De tipo epitelial

**Células LS174T | 300392**

**Growth properties** Aderente

**Dados regulatórios**

**Citation** LS174T (número de catálogo da Cytion 300392)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1384

**Dados biomoleculares**

**Protein expression** Antígeno do cólon 3 +, CEA +, p53 -, GFAP -, expressão de mRNA +

**Antigen expression** HLA A2, B13, B50, tipo sanguíneo 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** Sim, em camundongos nude

**Reverse transcriptase** Negativo

**Products** Antígeno carcinoembrionário (CEA) 1944 ng/106 células em 10 dias, mucina, interleucina-10 (IL-10), interleucina-6 (IL-6)

**Mutational profile** As células LS-174T apresentam uma mutação no códon 12 do gene Kras: GGT(Wt Gly) > GAT(Asp)

**Karyotype** 45,x, com um cromossomo X ausente, mas sem outras aberrações cromossômicas

**Manuseio**

**Células LS174T | 300392**

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), contendo: 2 mM de L-glutamina, contendo: 2,2 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, contendo: EBSS (número de artigo da Cytion 820100a)

**Supplements** Adicione ao meio 10% de FBS e 1% de NEAA

**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** 5 a  $8 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de  $5 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> 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 LS174T | 300392

### 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 CO<sub>2</sub>, 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 LS174T | 300392

### **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.