

Tế bào LS174T | 300392

Thông tin chung

Description

Dòng tế bào LS147T là một biến thể của LS-180, cả hai đều được phân lập từ khối u adenocarcinoma loại B của Duke ở ruột kết của một bệnh nhân nữ da trắng 58 tuổi. Dòng tế bào LS-180 ban đầu được thiết lập bằng cách nuôi cấy mô u đã được xay nhuyễn trong 10 tháng. LS-147T, cùng với dòng tế bào gốc của nó, nổi bật với việc biểu hiện nhiều gen ung thư bao gồm myc, myb, ras và fos, trong khi âm tính với các gen khác như sis, abl và ros. Dòng tế bào này cũng biểu hiện mức độ cao của kháng nguyên ung thư phôi (CEA), interleukin 6 (IL-6) và interleukin 10 (IL-10), là các dấu hiệu quan trọng và mục tiêu tiềm năng trong nghiên cứu ung thư đại tràng.

Các tế bào này thể hiện nhiều đặc điểm chính của tế bào biểu mô ruột kết, bao gồm vi lông phong phú và các túi mucin trong tế bào chất, những đặc điểm thường liên quan đến các tế bào tiết trong niêm mạc ruột kết. Các nghiên cứu bằng kính hiển vi điện tử đã xác nhận các chi tiết cấu trúc này, củng cố thêm nguồn gốc và trạng thái biệt hóa của chúng. Đặc biệt, các tế bào LS-147T đã được chứng minh là có khả năng gây ung thư ở chuột thiếu miễn dịch, liên tục tạo ra khối u khi được tiêm dưới da với mật độ tế bào cao, từ đó khẳng định tiềm năng ác tính của chúng.

Hơn nữa, dòng tế bào LS-147T đặc biệt có giá trị trong các nghiên cứu tập trung vào các khía cạnh phân tử và miễn dịch của ung thư đại trực tràng. Đã có báo cáo cho thấy dòng này dễ dàng hơn trong việc nuôi cấy so với dòng cha mẹ LS-180, khiến nó trở thành lựa chọn thực tiễn hơn cho các nghiên cứu dài hạn. Sản xuất CEA mạnh mẽ của các tế bào này, cao hơn đáng kể so với các dòng tế bào đã được thiết lập khác như HT-29, khiến LS-147T trở thành mô hình quan trọng để hiểu động học của các dấu hiệu ung thư và khám phá các liệu pháp nhắm mục tiêu trong ung thư đại trực tràng.

Organism	Con người
Tissue	Đại tràng
Disease	Ung thư biểu mô tuyến
Synonyms	Ls174T, LS174t, Ls-174-T, LS-174-T, LS 174 T, LS174T, Ls-174T, LS 174T, LS-174, LS174

Đặc điểm

Age	58 năm
Gender	Nữ
Ethnicity	Người da trắng
Morphology	Tương tự biểu mô
Growth properties	Người tuân thủ

Tế bào LS174T | 300392

Dữ liệu quy định

Citation	LS174T (Số catalog Cytion 300392)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1384

Dữ liệu sinh học phân tử

Protein expression	Kháng nguyên đại tràng 3 dương tính, CEA dương tính, p53 âm tính, GFAP âm tính, biểu hiện mRNA dương tính
Antigen expression	HLA A2, B13, B50, Nhóm máu O
Isoenzymes	ADA, 1: G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 2, PGD, A, ES-D, 1, PEP-D, 1
Oncogenes	Myc dương tính, myb dương tính, ras dương tính, fos dương tính, p53 dương tính, sis âm tính, abl âm tính, ros âm tính, src âm tính
Tumorigenic	Đúng vậy, ở chuột nude
Reverse transcriptase	Tiêu cực
Products	Kháng nguyên ung thư phôi (CEA) 1944 ng/10 ⁶ tế bào trong 10 ngày, mucin, interleukin-10 (IL-10), interleukin-6 (IL-6)
Mutational profile	Tế bào LS-174T mang đột biến tại codon 12 của gen Kras: GGT (Glycin tự nhiên) > GAT (Aspirin)
Karyotype	45,x với một nhiễm sắc thể X bị thiếu nhưng không có bất kỳ rối loạn nhiễm sắc thể nào khác

Xử lý

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), chứa: 2 mM L-Glutamine, chứa: 2,2 g/L NaHCO ₃ , chứa: EBSS (Số hiệu sản phẩm Cytion 820100a)
-----------------------	---

Tế bào LS174T | 300392

Supplements Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% huyết thanh bò phôi (FBS) và 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

Seeding density 5 đến 8×10^4 tế bào/cm²

Fluid renewal 2 đến 3 lần mỗi tuần

Post-Thaw Recovery Sau khi rã đông, cấy tế bào với mật độ 5×10^4 tế bào/cm² và để tế bào phục hồi sau quá trình đông lạnh và bám dính ít nhất 24 giờ.

Freeze medium Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào LS174T | 300392

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Không có

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

**Shipping
Conditions**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào LS174T | 300392

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196 °C. Việc bảo quản ở -80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.

Các alen HLA

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