

SW480-Luc | 305698

Обща информация

Description

SW480-Luc е биолуминесцентен вариант на човешката клетъчна линия SW480 от аденокарцином на дебелото черво, модифицирана така, че стабилно да експресира репортерния ген на луциферазата на светулката. Първоначалната клетъчна линия SW480 е създадена от първичен аденокарцином на дебелото черво на 51-годишен пациент от кавказката раса и се използва широко като модел на първичен колоректален рак. Клетките SW480 притежават епителиоподобна морфология и носят ключови онкогенни мутации, включително KRAS G12V, TP53 R273H и P309S, както и тримбиране на APC, което прави тази линия подходящ модел за изучаване на ролята на Wnt/ β -катенин и KRAS сигнализацията при колоректалния рак. Важно е да се отбележи, че SW480 е получена от същия пациент като SW620, но представлява първичния тумор, което позволява сравнителни изследвания на биологията на първичния и метастатичния колоректален рак.

Стабилната интеграция на луцифераза в SW480-Luc позволява чувствително, количествено биолуминесцентно изобразяване (BLI) на туморното натоварване в подкожни и ортотопични модели на ксенографти, използващи имунокомпрометирани приемници. Излъчваният луминесцентен сигнал корелира с броя на жизнеспособните туморни клетки, което подпомага неинвазивното проследяване във времето на приживяването на тумора, кинетиката на растежа и терапевтичния отговор. SW480-Luc се използва широко за *in vivo* оценка на средства, насочени към KRAS, инхибитори на Wnt пътя и химиотерапевтични режими при колоректален рак, както и за сравнителни проучвания със съответстващата метастатична линия SW620.

SW480-Luc запазва установените молекулярни характеристики на родителската линия SW480, включително мутациите в KRAS, TP53 и APC. Модификацията с луцифераза значително повишава експерименталната производителност и чувствителността при фармакодинамични проучвания *in vivo*. Изследователите трябва да проверят активността на луциферазата, мутационния профил и кинетиката на растежа при конкретните си експериментални условия, преди да пристъпят към широкомащабно предклинично приложение.

Organism

Човек

Tissue

Дебело черво

Disease

Аденокарцином на дебелото черво

Характеристики

Age

51 години

Gender

Мъжки

Ethnicity

Кавказки

Morphology

Подобни на епител

SW480-Luc | 305698

Growth properties

Придържачи се

Регулаторни данни

Citation

SW480-Luc (каталожен номер на Cytion 305698)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_C8Y1

GMO Status

GMO-S1: Тази клетъчна линия съдържа стабилно интегрирана репортерна касета с луцифераза от светулка (Luc2, кодон-оптимизирана), въведена чрез репликационно-некомпетентна лентивирусна трансдукция. Получената поликлонална клетъчна популация се поддържа при селекция с пурамицин (1–5 µg/mL). Необходимо е ниво на биологична безопасност S1. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Receptors expressed

Епидермален растежен фактор (EGF), кератин (имунопероксидазно оцветяване). Матрилизинът, металопротеиназа, свързана с инвазивността на тумора, не е експресиран.

Protein expression

Протеин P53; Luc2 (светкавица, с оптимизирани кодони)

Antigen expression

HLA A2, B8, B17, кръвна група A, Rh+. Luc2 (светкавица, кодон-оптимизиран)

Isoenzymes

G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1

Tumorigenic

Да, при голи мишки

Viruses

Отрицателна обратна транскриптаза

Virus susceptibility

Човешки имунодефицитен вирус (HIV, LAV)

Products

Карциномембрионален антиген (CEA) 0,7 ng/106 клетки/10 дни, кератин, TGF-β. Съобщава се, че клетките произвеждат GM-CSF.

SW480-Luc | 305698

Mutational profile	Мутация: p.Gln1338Ter, хомозиготен; Мутация: p.Gly12Val, хомозиготен; Мутация: p.Arg273His, хетерозиготен; Мутация: p.Pro309Ser, хетерозиготен
---------------------------	--

Работа с

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM стабилен глутамин, w: 1,0 mM натриев пируват, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820600a)
-----------------------	---

Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
--------------------	-----------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
---------------------	---

Split ratio	от 1 до 3
--------------------	-----------

Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
------------------------	-------------------------------

Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
----------------------	----------------------

Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна хранителна среда + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване.
----------------------	--

SW480-Luc | 305698

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $200 \times g$ в продължение на 5 минути, внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща средата за замразяване.
7. Следвайте процедурата, описана в раздел "Възстановяване след размразяване"

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

**Shipping
Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

**Storage
Conditions**

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ