

SW480 клетки | 300302

Обща информация

Description	Клетъчната линия SW480 произхожда от хирургичен образец на първичен тумор на умерено диференциран аденокарцином на дебелото черво.
Organism	Човек
Tissue	Дебело черво
Disease	Аденокарцином, степен IV, тип B на Дюкес.
Synonyms	SW480, SW 480, SW480E

Характеристики

Age	50 години
Gender	Мъжки
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Подобни на епител
Growth properties	Придържачи се

Регулаторни данни

Citation	SW-480 (каталожен номер 300302 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0546

Биомолекулярни данни

SW480 клетки | 300302

Receptors expressed	Епидермален растежен фактор (EGF), кератин (имунопероксидазно оцветяване). Матрилизинът, металопротеиназа, свързана с инвазивността на тумора, не е експресиран.
Protein expression	Клетките изразяват повишени нива на протеин p53.
Antigen expression	HLA A2, B8, В17, кръвна група А, Rh+. Линията е отрицателна за CSАp (CSАp-) и антиген на дебелото черво 3
Isoenzymes	G6PD, В, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, А, 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.
Mutational profile	Клетките SW-480 носят хомозиготна мутация на Kras в кодон 12: GGT(Wt Gly) >GTT(Val). В кодон 273 на гена p53 има мутация G->A, която води до замяна на Arg->His, и мутация C->T в кодон 309, която води до замяна на Pro->Ser.

Работа с

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM стабилен глутамин, w: 1,0 mM натриев пируват, w: 1,1 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820600a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20 до 25 часа

SW480 клетки | 300302

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.

Seeding density 1×10^4 клетки/cm²

Fluid renewal 1 до 2 пъти седмично

Post-Thaw Recovery След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

SW480 клетки | 300302

**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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

SW480 клетки | 300302**Shipping
Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка 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 / Генетичен профил / HLA**Sterility**

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

A*: '02:01:01, '24:02:01
B*: '07:02:01, '15:18:01
C*: '07:02:01, '07:04:01
DRB1*: '01:03:01, '13:01:01
DQA1*: '01:01:01, '01:03:01
DQB1*: '05:01:01, '06:03:01
DPB1*: '01:01:01, '04:01:01
E: '01:01, '01:03