

SW480-Luc | 305698

Obecné informace

Description

SW480-Luc je bioluminiscenční derivát lidské buněčné linie SW480 adenokarcinomu tlustého střeva, geneticky upravený tak, aby stabilně exprimoval reportérový gen luciferázy světlušky. Původní buněčná linie SW480 byla izolována z primárního adenokarcinomu tlustého střeva 51letého pacienta kavkazského původu a je široce využívána jako model primárního kolorektálního karcinomu. Buňky SW480 vykazují epiteliální morfologii a nesou klíčové onkogenní mutace, včetně KRAS G12V, TP53 R273H a P309S a zkrácení genu APC, což z této linie činí relevantní model pro studium role signálních drah Wnt/ β -katenin a KRAS v kolorektálním karcinomu. Důležité je, že linie SW480 byla odvozena od stejného pacienta jako linie SW620, představuje však primární nádor, což umožňuje srovnávací studie biologie primárního a metastatického kolorektálního karcinomu.

Stabilní integrace luciferázy v linii SW480-Luc umožňuje citlivé, kvantitativní bioluminiscenční zobrazování (BLI) nádorové zátěže v subkutánních a ortotopických modelech xenotransplantátů s využitím imunokompromitovaných hostitelů. Vysílaný luminiscenční signál koreluje s počtem životaschopných nádorových buněk, což umožňuje neinvazivní longitudinální sledování příhojení nádoru, kinetiky růstu a terapeutické odezvy. SW480-Luc se široce používá pro in vivo hodnocení látek zaměřených na KRAS, inhibitorů Wnt signální dráhy a chemoterapeutických režimů u kolorektálního karcinomu, stejně jako pro srovnávací studie s odpovídající metastatickou linií SW620.

SW480-Luc si zachovává zavedené molekulární charakteristiky mateřské linie SW480, včetně mutací v genech KRAS, TP53 a APC. Modifikace pomocí luciferázy podstatně zvyšuje experimentální propustnost a citlivost pro farmakodynamické studie in vivo. Výzkumníci by měli před rozsáhlým předklinickým použitím ověřit aktivitu luciferázy, mutační profil a růstovou kinetiku za svých specifických experimentálních podmínek.

Organism

Člověk

Tissue

Střeva

Disease

Adenokarcinom tlustého střeva

Charakteristika

Age

51 let

Gender

Muži

Ethnicity

Kavkazský

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

SW480-Luc | 305698

Citation	SW480-Luc (katalogové číslo Cytion 305698)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C8Y1
GMO Status	GMO-S1: Tato buněčná linie obsahuje stabilně integrovanou reportérovou kazetu s luciferázou světlušky (Luc2, s optimalizovanými kodony), která byla zavedena pomocí lentivirové transdukce s neschopností replikace. Výsledná polyklonální buněčná populace byla udržována pod selekcí puromycinem (1–5 µg/ml). Je vyžadována bezpečnostní třída S1. Tato klasifikace platí pouze v Německu a v jiných zemích se může lišit.

Biomolekulární data

Receptors expressed	Epidermální růstový faktor (EGF), keratin (barvení imunoperoxidázou). Matrilysin, metaloproteináza spojená s invazivitou nádoru, není exprimován.
Protein expression	Protein P53; Luc2 (světluška, s optimalizovanými kodony)
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, krevní skupina A, Rh+. Luc2 (světluška, kodonově optimalizovaný)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1
Tumorigenic	Ano, u nahých myší
Viruses	Reverzní transkriptáza negativní
Virus susceptibility	Virus lidské imunodeficiency (HIV, LAV)
Products	Karcinoembryonální antigen (CEA) 0,7 ng/106 buněk/10 dní, keratin, TGF-β. Bylo zjištěno, že buňky produkují GM-CSF.
Mutational profile	Mutace: p.Gln1338Ter, homozygotní; Mutace: p.Gly12Val, homozygotní; Mutace: p.Arg273His, heterozygotní; Mutace: p.Pro309Ser, heterozygotní

Zpracování

SW480-Luc | 305698

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilní glutamin, w: 1,0 mM pyruvát sodný, w: 1,1 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820600a)
-----------------------	---

Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
--------------------	--------------------------

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

Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
---------------------	--

Split ratio	1 až 3
--------------------	--------

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

Fluid renewal	2 až 3krát týdně
----------------------	------------------

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.
----------------------	--

SW480-Luc | 305698

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení buď okamžitě uložte kryovialku při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 200 x g po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte.
7. Postupujte podle postupu popsaneho v části Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza