

## Buňky SW480 | 300302

## Obecné informace

|                    |                                                                                                                              |
|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Description</b> | Buněčná linie SW480 pochází z chirurgického vzorku primárního nádoru středně diferencovaného adenokarcinomu tlustého střeva. |
| <b>Organism</b>    | Člověk                                                                                                                       |
| <b>Tissue</b>      | Střeva                                                                                                                       |
| <b>Disease</b>     | Adenokarcinom, stupeň IV, Dukesův typ B.                                                                                     |
| <b>Synonyms</b>    | SW480, SW 480, SW480E                                                                                                        |

## Charakteristika

|                          |                 |
|--------------------------|-----------------|
| <b>Age</b>               | 50 let          |
| <b>Gender</b>            | Muži            |
| <b>Ethnicity</b>         | Kavkazský       |
| <b>Morphology</b>        | Epitelu podobné |
| <b>Growth properties</b> | Adherentní      |

## Regulační údaje

|                             |                                         |
|-----------------------------|-----------------------------------------|
| <b>Citation</b>             | SW-480 (katalogové číslo Cytion 300302) |
| <b>Biosafety level</b>      | 1                                       |
| <b>NCBI_TaxID</b>           | 9606                                    |
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_0546                               |

## Biomolekulární data

## Buňky SW480 | 300302

|                             |                                                                                                                                                                                                               |
|-----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Receptors expressed</b>  | Epidermální růstový faktor (EGF), keratin (barvení imunoperoxidázou). Matrilysin, metaloproteináza spojená s invazivitou nádoru, není exprimován.                                                             |
| <b>Protein expression</b>   | Buňky exprimují zvýšenou hladinu proteinu p53.                                                                                                                                                                |
| <b>Antigen expression</b>   | HLA A2, B8, B17, krevní skupina A, Rh+. Linie je negativní na CSAp (CSAp-) a antigen tlustého střeva 3                                                                                                        |
| <b>Isoenzymes</b>           | G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1                                                                                                                                                         |
| <b>Tumorigenic</b>          | Ano, u nahých myší                                                                                                                                                                                            |
| <b>Viruses</b>              | Reverzní transkriptáza negativní                                                                                                                                                                              |
| <b>Virus susceptibility</b> | Virus lidské imunodeficiency (HIV, LAV)                                                                                                                                                                       |
| <b>Products</b>             | Karcinoembryonální antigen (CEA) 0,7 ng/106 buněk/10 dní, keratin, TGF- $\beta$ . Bylo zjištěno, že buňky produkují GM-CSF.                                                                                   |
| <b>Mutational profile</b>   | Buňky SW-480 nesou homozygotní mutaci Krasu v kodonu 12: GGT(Wt Gly) >GTT(Val). V kodonu 273 genu p53 je mutace G->A, která vede k záměně Arg->His, a mutace C->T v kodonu 309, která vede k záměně Pro->Ser. |

## Zpracování

|                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Culture Medium</b>       | Ham's F12, w: 1,0 mM stabilní glutamin, w: 1,0 mM pyruvát sodný, w: 1,1 g/l NaHCO <sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820600a)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>Supplements</b>          | Doplňte médium o 10% FBS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Dissociation Reagent</b> | Accutase                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Doubling time</b>        | 20 až 25 hodin                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Subculturing</b>         | 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 vyhoďte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium. |

## Buňky SW480 | 300302

**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:2 až 1:8**Seeding density**  $1 \times 10^4$  buněk/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 1 až 2krát týdně**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste buňky v množství  $5 \times 10^4$  buněk/cm<sup>2</sup> a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.**Thawing and Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte 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 odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělíte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

## Buňky SW480 | 300302

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating** Žádný

**Freezing Procedure** 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.

**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

**Sterility** Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

**Profil STR**

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 13,14  
**D13S317:** 12  
**D16S539:** 13  
**D5S818:** 13  
**D7S820:** 8  
**TH01:** 8  
**TPOX:** 11  
**vWA:** 16  
**D3S1358:** 15  
**D21S11:** 30,30.2  
**D18S51:** 13  
**Penta E:** 10  
**Penta D:** 9,15  
**D8S1179:** 13  
**FGA:** 24

**Buňky SW480 | 300302**

**Alely HLA**

**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