

SW480-Luc | 305698

Generel information

Description

SW480-Luc er et bioluminescerende derivat af den humane SW480-kolonadenokarcinom-cellelinje, der er genetisk modificeret til stabilt at udtrykke et reportergen baseret på ildflue-luciferase. Den oprindelige SW480-cellelinje blev etableret ud fra et primært adenokarcinom i tyktarmen hos en 51-årig kaukasisk mandlig patient og anvendes i vid udstrækning som model for primær kolorektal kræft. SW480-celler udviser epitelagtig morfologi og bærer vigtige onkogene mutationer, herunder KRAS G12V, TP53 R273H og P309S samt APC-trunkering, hvilket gør denne linje til en relevant model til at studere rollen af Wnt/ β -catenin- og KRAS-signaler i kolorektal kræft. Det er vigtigt at bemærke, at SW480 stammer fra samme patient som SW620, men repræsenterer den primære tumor, hvilket muliggør sammenlignende studier af biologien bag primær kontra metastatisk kolorektal kræft.

Den stabile luciferase-integration i SW480-Luc muliggør følsom, kvantitativ bioluminescensbilleddannelse (BLI) af tumorbyrden i subkutane og ortotopiske xenotransplantatmodeller ved brug af immunkompromitterede værter. Det udsendte luminescenssignal korrelerer med antallet af levedygtige tumorceller, hvilket understøtter ikke-invasiv, langsgående overvågning af tumorens inkorporering, vækstkinetik og terapeutisk respons. SW480-Luc anvendes i vid udstrækning til in vivo-evaluering af KRAS-mårettede midler, Wnt-signalvejsinhibitorer og kemoterapeutiske behandlingsregimer ved kolorektal kræft samt til sammenlignende studier med den tilsvarende metastatiske SW620-linje.

SW480-Luc bevarer de etablerede molekylære egenskaber fra den oprindelige SW480-linje, herunder KRAS-, TP53- og APC-mutationer. Luciferase-modifikationen forbedrer eksperimentel gennemstrømning og følsomhed væsentligt til in vivo-farmakodynamiske studier. Forskere bør verificere luciferaseaktiviteten, mutationsprofilen og vækstkinetikken under deres specifikke eksperimentelle betingelser, inden der foretages præklinisk anvendelse i stor skala.

Organism

Menneske

Tissue

Tarm

Disease

Adenokarcinom i tyktarmen

Karakteristika

Age

51 år

Gender

Mand

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Epitel-lignende

Growth properties

Vedhæftende

SW480-Luc | 305698

Regulatoriske data

Citation	SW480-Luc (Cytion-katalognummer 305698)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C8Y1
GMO Status	GMO-S1: Denne cellelinje indeholder en stabilt integreret reporter-kassette med ildflue-luciferase (Luc2, kodonoptimeret), der er indført via replikationsinkompetent lentiviral transduktion. Den resulterende polyklonale cellepopulation blev opretholdt under puromycin-selektion (1–5 µg/mL). S1-indeslutning er påkrævet. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data

Receptors expressed	Epidermal vækstfaktor (EGF), keratin (immunoperoxidase-farvning). Matrilysin, en metalloproteinase, der er forbundet med tumorinvasivitet, udtrykkes ikke.
Protein expression	P53-protein; Luc2 (ildflue, kodonoptimeret)
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, blodtype A, Rh+. Luc2 (ildflue, kodonoptimeret)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1
Tumorigenic	Yeees, i nøgne mus
Viruses	Revers transkriptase negativ
Virus susceptibility	Human immundefekt-virus (HIV, LAV)
Products	Carcinoembryonalt antigen (CEA) 0,7 ng/106 celler/10 dage, keratin, TGF-β. Det er blevet rapporteret, at cellerne producerer GM-CSF.
Mutational profile	Mutation: p.Gln1338Ter, Homozygot; Mutation: p.Gly12Val, Homozygot; Mutation: p.Arg273His, Heterozygot; Mutation: p.Pro309Ser, Heterozygot

Håndtering

SW480-Luc | 305698

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabil glutamin, w: 1,0 mM natriumpyruvat, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820600a)
-----------------------	--

Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
--------------------	----------------------------

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

Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
---------------------	---

Split ratio	1 til 3
--------------------	---------

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

Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
----------------------	-----------------------

Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium + 10 % DMSO for at opnå tilstrækkelig levedygtighed efter optøning.
----------------------	---

SW480-Luc | 305698

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelse skal du enten opbevare kryohætteglasset med det samme ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller fortsætte til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 200 x g i 5 minutter, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder frysemedium.
7. Følg proceduren beskrevet under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse