

SW480-celler | 300302

Generel information

Description	SW480-cellelinjen stammer fra en kirurgisk prøve af en primær tumor af et moderat differentieret adenokarcinom i tyktarmen.
Organism	Menneske
Tissue	Tarm
Disease	Adenokarcinom, grad IV, Dukes' type B.
Synonyms	SW480, SW 480, SW480E

Karakteristika

Age	50 år
Gender	Mand
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation	SW-480 (Cytion katalognummer 300302)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0546

Biomolekylære data

SW480-celler | 300302

Receptors expressed	Epidermal vækstfaktor (EGF), keratin (immunoperoxidase-farvning). Matrilysin, en metalloproteinase, der er forbundet med tumorinvasivitet, udtrykkes ikke.
Protein expression	Cellerne udtrykker forhøjede niveauer af p53-protein.
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, blodtype A, Rh+. Linjen er negativ for CSAp (CSAp-) og colon antigen 3
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1
Tumorigenic	Yees, 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	SW-480-celler bærer en homozygot Kras-mutation i codon 12: GGT(Wt Gly) >GTT(Val). Der er en G->A-mutation i codon 273 i p53-genet, som resulterer i en Arg->His-substitution, og en C->T-mutation i codon 309, som resulterer i en Pro->Ser-substitution.

Håndtering

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
Doubling time	20 til 25 timer
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 løse 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.

SW480-celler | 300302

Seeding density 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 1 til 2 gange om ugen

Post-Thaw Recovery Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

Freeze medium Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

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 modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre 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 kun 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 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, befugt atmosfære.

SW480-celler | 300302

Flask Coating Ingen**Freezing Procedure**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris 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.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris 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**Sterility**

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

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