

SW480-Luc | 305698

Allgemeine Informationen

Description

SW480-Luc ist ein biolumineszentes Derivat der menschlichen SW480-Kolonadenokarzinom-Zelllinie, das so gentechnisch verändert wurde, dass es ein Firefly-Luciferase-Reporter gen stabil exprimiert. Die ursprüngliche SW480-Zelllinie wurde aus einem primären Kolonadenokarzinom eines 51-jährigen männlichen Patienten kaukasischer Abstammung etabliert und wird häufig als Modell für primären kolorektalen Krebs verwendet. SW480-Zellen weisen eine epithelähnliche Morphologie auf und tragen wichtige onkogene Mutationen in sich, darunter KRAS G12V, TP53 R273H und P309S sowie eine APC-Trunkierung, was diese Zelllinie zu einem relevanten Modell für die Untersuchung der Rolle der Wnt/ β -Catenin- und KRAS-Signalwege bei kolorektalem Karzinom macht. Wichtig ist, dass SW480 vom selben Patienten stammt wie SW620, jedoch den Primärtumor repräsentiert, was vergleichende Untersuchungen der Biologie von primärem und metastasiertem Kolorektalkarzinom ermöglicht.

Die stabile Integration von Luciferase in SW480-Luc ermöglicht eine empfindliche, quantitative Biolumineszenz-Bildgebung (BLI) der Tumorlast in subkutanen und orthotopen Xenotransplantatmodellen unter Verwendung immungeschwächter Wirte. Das emittierte Lumineszenzsignal korreliert mit der Anzahl lebensfähiger Tumorzellen und ermöglicht so eine nichtinvasive Langzeitüberwachung der Tumoransiedlung, der Wachstumskinetik und des Ansprechens auf die Therapie. SW480-Luc wird häufig für die In-vivo-Bewertung von KRAS-gerichteten Wirkstoffen, Wnt-Signalweg-Inhibitoren und Chemotherapien bei kolorektalem Karzinom sowie für Vergleichsstudien mit der passenden metastatischen SW620-Linie eingesetzt.

SW480-Luc behält die etablierten molekularen Eigenschaften der Elternlinie SW480 bei, einschließlich der KRAS-, TP53- und APC-Mutationen. Die Luciferase-Modifikation erhöht den experimentellen Durchsatz und die Empfindlichkeit für pharmakodynamische In-vivo-Studien erheblich. Forscher sollten die Luciferaseaktivität, das Mutationsprofil und die Wachstumskinetik unter ihren spezifischen Versuchsbedingungen vor dem groß angelegten präklinischen Einsatz überprüfen.

Organism

Menschen

Tissue

Doppelpunkt

Disease

Adenokarzinom des Dickdarms

Merkmale

Age

51 Jahre

Gender

Männlich

Ethnicity

Kaukasisch

Morphology

Epithelähnlich

SW480-Luc | 305698

Growth properties

Adhärent

Regulatorische Daten**Citation**

SW480-Luc (Cytion-Katalognummer 305698)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_C8Y1

GMO Status

GMO-S1: Diese Zelllinie enthält eine stabil integrierte Firefly-Luciferase-Reporterkassette (Luc2, codonoptimiert), die mittels replikationsinkompetenter lentiviraler Transduktion eingeführt wurde. Die daraus resultierende polyklonale Zellpopulation wurde unter Puromycin-Selektion (1–5 µg/ml) kultiviert. Eine S1-Sicherheitsstufe ist erforderlich. Diese Einstufung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten**Receptors expressed**

Epidermaler Wachstumsfaktor (EGF), Keratin (Immunoperoxidase-Färbung). Matrilysin, eine Metalloproteinase, die mit der Invasivität von Tumoren in Verbindung gebracht wird, wird nicht exprimiert.

Protein expression

P53-Protein; Luc2 (Glühwürmchen, codonoptimiert)

Antigen expression

HLA A2, B8, B17, Blutgruppe A, Rh+. Luc2 (Glühwürmchen, codonoptimiert)

Isoenzymes

G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1

Tumorigenic

Ja, in Nacktmäusen

Viruses

Reverse Transkriptase negativ

Virus susceptibility

Humanes Immundefizienz-Virus (HIV, LAV)

Products

Carcinoembryonales Antigen (CEA) 0,7 ng/10⁶ Zellen/10 Tage, Keratin, TGF-β. Es wurde berichtet, dass die Zellen GM-CSF produzieren.

SW480-Luc | 305698

Mutational profile	Mutation: p.Gln1338Ter, Homozygot; Mutation: p.Gly12Val, Homozygot; Mutation: p.Arg273His, Heterozygot; Mutation: p.Pro309Ser, Heterozygot
---------------------------	--

Handhabung

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabiles Glutamin, w: 1,0 mM Natriumpyruvat, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion-Artikelnummer 820600a)
-----------------------	--

Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
--------------------	-------------------------------------

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

Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
---------------------	--

Split ratio	1 bis 3
--------------------	---------

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

Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche
----------------------	-----------------------

Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir vollständiges Wachstumsmedium + 10 % DMSO, um eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten.
----------------------	---

SW480-Luc | 305698

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Die Mischung 5 Minuten lang bei 200 x g zentrifugieren und den Überstand mit dem Gefriermedium vorsichtig verwerfen.
7. Befolgen Sie das unter Wiederherstellung nach dem Auftauen beschriebene Verfahren

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, befeuchtete Atmosphäre.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse