Product sheet

SW480-Luc | 305698

Γενικές πληροφορίες

Description	Το SW480-Luc είναι ένα βιοφωταυγές παράγωγο της ανθρώπινης κυτταρικής σειράς SW480 αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου, το οποίο έχει τροποποιηθεί γενετικά ώστε να εκφράζει σταθερά ένα γονίδιο αναφοράς λουσιφεράσης πυγολαμπίδας. Η μητρική κυτταρική σειρά SW480 δημιουργήθηκε από πρωτοπαθές αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου ενός 51χρονου λευκού άνδρα και χρησιμοποιείται ευρέως ως μοντέλο πρωτοπαθούς καρκίνου του παχέος εντέρου. Τα κύτταρα SW480 παρουσιάζουν επιθηλιακή μορφολογία και φέρουν βασικές ογκογονικές μεταλλάξεις, όπως KRAS G12V, TP53 R273H και P309S, καθώς και περικοπή του γονιδίου APC, γεγονός που καθιστά αυτή τη σειρά ένα κατάλληλο μοντέλο για τη μελέτη του ρόλου των σηματοδοτικών οδών Wnt/β-κατενίνης και KRAS στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η σειρά SW480 προήλθε από τον ίδιο ασθενή με τη σειρά SW620, αλλά αντιπροσωπεύει τον πρωτογενή όγκο, επιτρέποντας συγκριτικές μελέτες της βιολογίας του πρωτογενούς έναντι του μεταστατικού καρκίνου του παχέος εντέρου. Η σταθερή ενσωμάτωση της λουσιφεράσης στο SW480-Luc επιτρέπει την ευαίσθητη, ποσοτική απεικόνιση βιοφωταύγειας (BLI) του όγκου σε υποδόρια και ορθοτοπικά μοντέλα ξενομοσχεύματος χρησιμοποιώντας ανοσοκατεσταλμένους ξενιστές. Το εκπεμπόμενο φωταυγές σήμα συσχετίζεται με τον αριθμό των βιώσιμων καρκινικών κυττάρων, υποστηρίζοντας τη μη επεμβατική διαχρονική παρακολούθηση της εμφύτευσης του όγκου, της κινητικής ανάπτυξης και της θεραπευτικής απόκρισης. Το SW480-Luc χρησιμοποιείται ευρέως για την in vivo αξιολόγηση παραγόντων που στοχεύουν το KRAS, αναστολέων της οδού Wnt και χημειοθεραπευτικών αγωγών στον καρκίνο του παχέος εντέρου, καθώς και για συγκριτικές μελέτες με την αντίστοιχη μεταστατική σειρά SW620. Το SW480-Luc διατηρεί τα καθιερωμένα μοριακά χαρακτηριστικά της γονικής σειράς SW480, συμπεριλαμβανομένων των μεταλλάξεων στα γονίδια KRAS, TP53 και APC. Η τροποποίηση με λουσιφεράση ενισχύει σημαντικά την πειραματική απόδοση και την ευαισθησία για φαρμακοδυναμικές μελέτες in vivo. Οι ερευνητές θα πρέπει να επαληθεύουν τη δραστηριότητα της λουσιφεράσης, το προφίλ των μεταλλάξεων και την κινητική ανάπτυξης υπό τις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες τους πριν από την προκλινική χρήση σε μεγάλη κλίμακα.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Κόλον
Disease	Αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου

Χαρακτηριστικά

Age	51 χρόνια
Gender	Άντρας
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Επιθηλιοειδής

SW480-Luc | 305698

Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	SW480-Luc (αριθμός καταλόγου Cytion 305698)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C8Y1
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά περιέχει μια σταθερά ενσωματωμένη κασέτα αναφοράς λουσιφεράσης πυγολαμπίδας (Luc2, με βελτιστοποιημένα κωδόνια), η οποία εισήχθη μέσω λεντιϊκής μεταγωγής χωρίς ικανότητα αναπαραγωγής. Ο προκύπτων πολυκλωνικός κυτταρικός πληθυσμός διατηρήθηκε υπό επιλογή με πουρομυκίνη (1–5 μg/mL). Απαιτείται περιορισμός S1. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF), κερατίνη (χρώση με ανοσοϋπεροξειδάση). Η ματριλυσίνη, μια μεταλλοπρωτεϊνάση που σχετίζεται με την εισχωρητικότητα του όγκου, δεν εκφράζεται.
Protein expression	Πρωτεΐνη P53· Luc2 (πυγολαμπίδα, με βελτιστοποιημένα κωδόνια)
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, ομάδα αίματος A, Rh+. Luc2 (πυγολαμπίδα, με βελτιστοποιημένα κωδόνια)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1
Tumorigenic	Ναι, σε γυμνά ποντίκια
Viruses	Αντίστροφη μεταγραφάση αρνητική
Virus susceptibility	Ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV, LAV)
Products	Καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA) 0,7 ng/106 κύτταρα/10 ημέρες, κερατίνη, TGF-β. Έχει αναφερθεί ότι τα κύτταρα παράγουν GM-CSF.

SW480-Luc | 305698

Mutational profile	Μετάλλαξη: p.Gln1338Ter, ομόζυγος- Μετάλλαξη: p.Gly12Val, ομόζυγος- Μετάλλαξη: p.Arg273His, ετερόζυγος- Μετάλλαξη: p.Pro309Ser, ετερόζυγος

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Split ratio	1 έως 3
Seeding density	1 έως 3 x 10^4 κύτ^{ταρα}/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρήστε το μείγμα στα 200 x g για 5 λεπτά, απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το μέσο κατάψυξης.

7. Ακολουθήστε τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα Ανάκτηση μετά την απόψυξη

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση