

SW480-Luc | 305698

Üldine teave

Description

SW480-Luc on inimese SW480 käärsoole adenokartsinoomi rakuliini bioluminestsentne derivaat, mis on geneetiliselt muundatud nii, et see ekspresseerib stabiilselt särava liblika lusiferase reportergeeni. Algrakuliin SW480 loodi 51-aastase valge nahavärviga meespatsiendi esmase käärsoole adenokartsinoomi põhjal ning seda kasutatakse laialdaselt esmase kolorektaalvähi mudelina. SW480-rakud näitavad epiteelilaadset morfoloogiat ja sisaldavad olulisi onkogeenseid mutatsioone, sealhulgas KRAS G12V, TP53 R273H ja P309S ning APC-trunkatsiooni, mis teeb sellest liinist asjakohase mudeli Wnt/ β -kateniini ja KRAS-signaalimise rolli uurimiseks kolorektaalvähis. Oluline on see, et SW480 pärineb samalt patsiendilt kui SW620, kuid esindab primaartuumorit, võimaldades võrdlevaid uuringuid primaarse ja metastaatilise kolorektaalvähi bioloogia kohta.

Stabiilne lusiferaasi integratsioon SW480-Luc-is võimaldab tundlikku, kvantitatiivset bioluminestsentskuvamist (BLI) kasvajakoomuse hindamiseks subkutaansetes ja ortotopilistes ksenotransplantaadi mudelites, kasutades immuunpuudulikkusega peremeesorganisme. Kiirataav luminescentssignaal korreleerub elujõuliste kasvajakude arvuga, toetades kasvaja juurdumise, kasvukineetika ja ravivastuse mitteinvasiivset pikaajalist jälgimist. SW480-Luc'i kasutatakse laialdaselt KRAS-i sihtmärgiks olevate ravimite, Wnt-signaalitee inhibiitorite ja kolorektaalvähi kemoteraapiaarežiimide in vivo hindamiseks, samuti võrdlevateks uuringuteks vastava metastaatilise SW620 liiniga.

SW480-Luc säilitab emaliini SW480 väljakujunenud molekulaarsed omadused, sealhulgas KRAS-, TP53- ja APC-mutatsioonid. Lusiferase modifikatsioon suurendab oluliselt eksperimendi läbilaskevõimet ja tundlikkust in vivo farmakodünaamilistes uuringutes. Enne laialtlevitatavku prekliinilist kasutamist peaksid teadlased oma konkreetsetes katsetingimustes kontrollima lusiferase aktiivsust, mutatsiooniprofiili ja kasvukineetikat.

Organism

Inimene

Tissue

Colon

Disease

Jämesoole adenokartsinoom

Omadused

Age

51 aastat

Gender

Mees

Ethnicity

Kaukaasia

Morphology

Epiteelilaadsed

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

SW480-Luc | 305698

Citation	SW480-Luc (Cytioni katalooginumber 305698)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C8Y1
GMO Status	GMO-S1: See rakuliin sisaldab stabiilselt integreeritud tulikärbselucifereesi reporterkaasetti (Luc2, kodonoptimeeritud), mis on viidud sisse replikatsioonivõimetu lentiviiruse transduktsiooni teel. Saadud polüklooniline rakupopulatsioon hoiti puromütsiini selektsiooni all (1–5 µg/ml). Nõutav on S1-ohutustase. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed	Epidermise kasvufaktor (EGF), keratiin (immunoperoksüdaasi värvimine). Matrilüsiin, metalloproteiin, mis on seotud kasvaja invasiivsusega, ei ekspresseeru.
Protein expression	P53-valk; Luc2 (tulikärbes, kodonoptimeeritud)
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, veregrupp A, Rh+. Luc2 (tulikärbes, kodonoptimeeritud)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1
Tumorigenic	Jah, alasti hiirtel
Viruses	Reverse transkriptaasi negatiivne
Virus susceptibility	Inimese immuunpuudulikkuse viirus (HIV, LAV)
Products	Kartsiinoembüooniline antigeen (CEA) 0,7 ng/106 rakku/10 päeva, keratiin, TGF-β. On teatatud, et rakud toodavad GM-CSF-i.
Mutational profile	Mutatsioon: p.Gln1338Ter, homosügootne; Mutatsioon: p.Gly12Val, homosügootne; Mutatsioon: p.Arg273His, heterosügootne; Mutatsioon: p.Pro309Ser, heterosügootne

Töötlemine

SW480-Luc | 305698

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabiilne glutamiin, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820600a)
-----------------------	--

Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
--------------------	-----------------------------

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

Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
---------------------	---

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

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

Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
----------------------	------------------------

Freeze medium	Krüsosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.
----------------------	---

SW480-Luc | 305698

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Tsentrifuugige segu 5 minutit $200 \times g$ juures, visake ettevaatlikult ära külmutusvedelikku sisaldav supernatant.
7. Järgige punktis "Taastamisjärgne taastamine" kirjeldatud menetlust

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196°C juures. Säilitamine temperatuuril -80°C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs