

SW480 rakud | 300302

Üldine teave

| | |
|--------------------|---|
| Description | SW480 rakuliin pärineb mõõdukalt diferentseerunud käärsoole adenokartsinoomi esmase kasvaja kirurgilisest proovist. |
| Organism | Inimene |
| Tissue | Colon |
| Disease | Adenokartsinoom, IV aste, Dukes'i tüüp B. |
| Synonyms | SW480, SW 480, SW480E |

Omadused

| | |
|--------------------------|-----------------|
| Age | 50 aastat |
| Gender | Mees |
| Ethnicity | Kaukaasia |
| Morphology | Epiteelilaadsed |
| Growth properties | Kinnipeetav |

Regulatiivsed andmed

| | |
|-----------------------------|---|
| Citation | SW-480 (Cytioni katalooginumber 300302) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_0546 |

Biomolekulaarsed andmed

SW480 rakud | 300302

| | |
|-----------------------------|--|
| Receptors expressed | Epidermise kasvufaktor (EGF), keratiin (immunoperoksüdaasi värvimine). Matrilüsiin, metalloproteinaas, mis on seotud kasvaja invasiivsusega, ei ekspresseeru. |
| Protein expression | Rakud väljendavad kõrgendatud p53 valgu taset. |
| Antigen expression | HLA A2, B8, B17, veregrupp A, Rh+. Joon on negatiivne CSAp (CSAp-) ja käärsuole antigeeni 3 suhtes |
| 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 | Kartsinoembüooniline antigeen (CEA) 0,7 ng/106 rakku/10 päeva, keratiin, TGF-β. On teatatud, et rakud toodavad GM-CSF-i. |
| Mutational profile | SW-480 rakkudes on homosügootne Kras-mutatsioon koodonis 12: GGT(Wt Gly) >GTT(Val). P53 geeni koodonis 273 on G->A mutatsioon, mille tulemuseks on Arg->His asendus, ja koodonis 309 on C->T mutatsioon, mille tulemuseks on Pro->Ser asendus. |

Töötlemine

| | |
|-----------------------------|---|
| 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 |
| Doubling time | 20-25 tundi |
| 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. |

SW480 rakud | 300302

Seeding density 1 x 10⁴ rakku/cm²

Fluid renewal 1 kuni 2 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5 x 10⁴ rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

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. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating Puudub

SW480 rakud | 300302

Freezing Procedure

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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

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

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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