

SW480-Luc | 305698

Yleisiä tietoja

Description

SW480-Luc on ihmisen SW480-paksusuolen adenokarsinoomasolulinjan bioluminesoiva johdannainen, joka on muokattu ilmentämään vakaasti tulikärpäsän lusiferaasi-raportointigeeniä. Alkuperäinen SW480-solulinja perustettiin 51-vuotiaan valkoihoisen miespotilaan primaarisesta paksusuolen adenokarsinoomasta, ja sitä käytetään laajalti primaarisen kolorektaalisyövän mallina. SW480-solut ovat morfologialtaan epiteelin kaltaisia ja niissä esiintyy keskeisiä onkogeenejä mutaatioita, kuten KRAS G12V, TP53 R273H ja P309S sekä APC-trunkaatio, minkä vuoksi tämä solulinja on merkityksellinen malli Wnt/ β -kateniini- ja KRAS-signaaloinnin roolin tutkimiseen paksusuolisyövässä. Merkittävää on, että SW480 on peräisin samalta potilaalta kuin SW620, mutta edustaa primaarista kasvainta, mikä mahdollistaa primaarisen ja metastaattisen kolorektaalisyövän biologian vertailututkimukset.

SW480-Luc-linjaan integroitu stabiili lusiferaasi mahdollistaa herkän, kvantitatiivisen bioluminesenssikuvantamisen (BLI) kasvaimen kuormituksesta ihonalaisissa ja ortotopisissa ksenotransplantaattimalleissa, joissa käytetään immuunipuutteisia isäntiä. Lähetetty luminesenssisignaali korreloi elävien kasvainsolujen lukumäärän kanssa, mikä tukee kasvaimen kiinnittymisen, kasvukineettisten ominaisuuksien ja hoitovasteen ei-invasiivista pitkäaikaistutkimusta. SW480-Luc-kantaa käytetään laajalti KRAS-kohdennettujen lääkeaineiden, Wnt-signaalintireitin estäjien ja kolorektaalisyövän kemoterapiahoitojen in vivo -arviointiin sekä vertailututkimuksiin vastaavan metastaattisen SW620-kannan kanssa.

SW480-Luc säilyttää emolinjan SW480 vakiintuneet molekyyliominaisuudet, mukaan lukien KRAS-, TP53- ja APC-mutaatiot. Lusiferaasimodifikaatio parantaa merkittävästi kokeiden läpimenokapasiteettia ja herkkyyttä in vivo -farmakodynaamisissa tutkimuksissa. Tutkijoiden tulee tarkistaa lusiferaasiaktiivisuus, mutaatioprofiili ja kasvukineettiset ominaisuudet omissa kokeellisissa olosuhteissaan ennen laajamittaista prekliinistä käyttöä.

Organism

Ihminen

Tissue

Paksusuoli

Disease

Paksusuolen adenokarsinooma

Ominaisuudet

Age

51 vuotta

Gender

Mies

Ethnicity

Kaukasialainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

Growth properties

Tarttuva

SW480-Luc | 305698

Säätelytiedot

Citation	SW480-Luc (Cytion-tuotenumero 305698)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C8Y1
GMO Status	GMO-S1: Tämä solulinja sisältää vakaasti integroidun tulikärpäsän lusiferaasi-raportointikasetin (Luc2, kodonien suhteen optimoitu), joka on tuotu soluihin replikaatiokyvyttömän lentiviruksen välityksellä. Tuloksena saatu polyklonaalinen solupopulaatio ylläpidettiin puromysiiniselektiossa (1–5 µg/ml). S1-turvaluokitus vaaditaan. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.

Biomolekyyli tiedot

Receptors expressed	Epiderminen kasvutekijä (EGF), keratiini (immunoperoksidaasivärjäys). Matrilysiini, joka on kasvaimen invasiivisuuteen liittyvä metalloproteiinaasi, ei ilmentynyt.
Protein expression	P53-proteiini; Luc2 (tulikärpäsän, kodonien suhteen optimoitu)
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, veriryhmä A, Rh+. Luc2 (tulikärpäsän, kodonoptimoitu)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1
Tumorigenic	Kyllä, alastomilla hiirillä
Viruses	Käänteinen transkriptaasi negatiivinen
Virus susceptibility	Ihmisen immuunikatovirus (HIV, LAV)
Products	Karsinoembryoninen antigeeni (CEA) 0,7 ng/106 solua/10 päivää, keratiini, TGF-β. Solujen on raportoitu tuottavan GM-CSF:ää.
Mutational profile	Mutaatio: p.Gln1338Ter, homotsygootti; Mutaatio: p.Gly12Val, homotsygootti; Mutaatio: p.Arg273His, heterotsygootti; Mutaatio: p.Pro309Ser, heterotsygootti

Käsittely

SW480-Luc | 305698

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820600a)
-----------------------	--

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
--------------------	---

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

Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
---------------------	---

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

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

Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
----------------------	---------------------

Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa + 10 % DMSO:ta, jotta elinkelpoisuus olisi riittävä sulatuksen jälkeen.
----------------------	---

SW480-Luc | 305698

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 200 x g:n voimakkuudella 5 minuuttia ja hävitä varovasti pakastusmediaa sisältävä supernatantti.
7. Noudatetaan kohdassa Sulattamisen jälkeinen talteenotto kuvattua menettelyä

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 %_{CO2}, kostutettu ilmakehä.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi