

SW480-Luc | 305698

Általános információk

Description

Az SW480-Luc az emberi SW480 vastagbél-adenokarcinóma sejtvonal biolumineszcens származéka, amelyet úgy alakítottak ki, hogy stabilan kifejezze a szentjánosbogár-luciferáz riportergént. Az eredeti SW480 sejtvonalat egy 51 éves kaukázusi férfi beteg primer vastagbél-adenokarcinómájából állították elő, és széles körben használják primer kolorektális rák modelljeként. Az SW480 sejtek epiteliális jellegű morfológiát mutatnak, és olyan kulcsfontosságú onkogén mutációkat hordoznak, mint a KRAS G12V, a TP53 R273H és P309S, valamint az APC-trunkáció, ami ezt a vonalat releváns modellé teszi a Wnt/ β -katenin és a KRAS jelátvitel szerepének vizsgálatához a kolorektális rákban. Fontos kiemelni, hogy az SW480 ugyanabból a betegből származik, mint az SW620, de az elsődleges daganatot képviseli, ami lehetővé teszi az elsődleges és a metasztatikus kolorektális rák biológiájának összehasonlító vizsgálatát.

A SW480-Luc-ban lévő stabil luciferáz-integráció lehetővé teszi a tumorterhelés érzékeny, kvantitatív biolumineszcens képalkotását (BLI) szubkután és ortotópos xenotranszplantátum-modellekben immunhiányos gazdaszervezetek felhasználásával. A kibocsátott lumineszcens jel korrelál az életképes tumorsejtek számával, ami lehetővé teszi a tumor beültetésének, növekedési kinetikájának és a terápiás válaszra adott reakciójának nem invazív, longitudinális nyomon követését. Az SW480-Luc-ot széles körben használják a KRAS-célzott szerek, a Wnt-út vonal gátlói és a kolorektális rák kemoterápiás kezeléseinek in vivo értékelésére, valamint a hozzá illeszkedő metasztatikus SW620 vonallal végzett összehasonlító vizsgálatokhoz.

Az SW480-Luc megőrzi az eredeti SW480 vonal jól ismert molekuláris jellemzőit, beleértve a KRAS-, TP53- és APC-mutációkat. A luciferáz-módosítás jelentősen növeli a kísérleti teljesítményt és az érzékenységet az in vivo farmakodinamikai vizsgálatok során. A kutatóknak a nagyszabású preklinikai alkalmazás előtt ellenőrizniük kell a luciferáz-aktivitást, a mutációs profilt és a növekedési kinetikát a saját kísérleti körülményeik között.

Organism

Emberi

Tissue

Vastagbél

Disease

Vastagbél adenokarcinóma

Jellemzők

Age

51 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Epithelszerű

Growth properties

Adherent

SW480-Luc | 305698

Szabályozási adatok

Citation	SW480-Luc (Cytion katalógusszám: 305698)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C8Y1
GMO Status	GMO-S1: Ez a sejtvonal egy stabilan integrált szentjánosbogár-luciferáz riporterkazettát (Luc2, kodonoptimalizált) tartalmaz, amelyet replikációra képtelen lentivirális transzdukcióval juttattak be. A kapott poliklonális sejtpopulációt puromicin-szelekció (1–5 µg/mL) mellett tartották fenn. S1-es biztonsági besorolás szükséges. Ez a besorolás kizárólag Németország területén érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed	Epidermális növekedési faktor (EGF), keratin (immunoperoxidáz festés). A matrilizin, a tumor invazivitásával összefüggésbe hozható metalloproteináz nem expresszálódik.
Protein expression	P53 fehérje; Luc2 (szentjánosbogár, kodonoptimalizált)
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, A vércsoport, Rh+. Luc2 (szentjánosbogár, kodonoptimalizált)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1
Tumorigenic	Igen, meztelen egerekben
Viruses	Fordított transzkriptáz negatív
Virus susceptibility	Humán immunhiányos vírus (HIV, LAV)
Products	Karcinoembrionális antigén (CEA) 0,7 ng/106 sejt/10 nap, keratin, TGF-β. A sejtek a jelentések szerint GM-CSF-et termelnek.
Mutational profile	Mutáció: p.Gln1338Ter, homozigóta; Mutáció: p.Gly12Val, homozigóta; Mutáció: p.Arg273His, heterozigóta; Mutáció: p.Pro309Ser, heterozigóta

SW480-Luc | 305698

A kezelése

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabil glutamin, w: 1,0 mM nátrium-piruvát, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion cikkszám 820600a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Split ratio	1-3
Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében.

SW480-Luc | 305698

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és felnyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $200 \times g$ -nél 5 percig, a fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót óvatosan dobjuk el.
7. Kövesse a felolvasztás utáni helyreállításnál leírt eljárást

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés