

SW480 sejtek | 300302

Általános információk

Description	Az SW480 sejtvonal egy közepesen differenciált vastagbél adenokarcinóma primer tumorának sebészeti mintájából származik.
Organism	Emberi
Tissue	Vastagbél
Disease	Adenokarcinóma, IV. fokozat, Dukes B típus.
Synonyms	SW480, SW 480, SW480E

Jellemzők

Age	50 év
Gender	Férfi
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Epithelszerű
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	SW-480 (Cytion katalógusszám: 300302)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0546

Biomolekuláris adatok

SW480 sejtek | 300302

Receptors expressed	Epidermális növekedési faktor (EGF), keratin (immunoperoxidáz festés). A matrilizin, a tumor invazivitásával összefüggésbe hozható metalloproteináz nem expresszálódik.
Protein expression	A sejtek a p53 fehérje megemelkedett szintjét expresszálják.
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, A vércsoport, Rh+. A vonal negatív a CSAp-re (CSAp-) és a vastagbél antigén 3-ra
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	Az SW-480 sejtek homozigóta Kras-mutációt hordoznak a 12. kodonban: GGT(Wt Gly) >GTT(Val). A p53 gén 273-as kodonjában egy G->A mutáció található, amely Arg->His helyettesítést eredményez, és egy C->T mutáció a 309-es kodonban, amely Pro->Ser helyettesítést eredményez.

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
Doubling time	20-25 óra

SW480 sejtek | 300302

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.

Seeding density 1×10^4 sejt/cm²

Fluid renewal hetente 1-2 alkalommal

Post-Thaw Recovery Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

SW480 sejtek | 300302

**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 nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 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 $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat 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.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat 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.

SW480 sejtek | 300302

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 / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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