

SW480-Luc | 305698

Informazioni generali

Description

SW480-Luc è un derivato bioluminescente della linea cellulare SW480, proveniente da un adenocarcinoma del colon umano, ingegnerizzata per esprimere in modo stabile un gene reporter codificante la luciferasi della lucciola. La linea cellulare parentale SW480 è stata ottenuta da un adenocarcinoma del colon primario di un paziente maschio caucasico di 51 anni ed è ampiamente utilizzata come modello di tumore colorettale primario. Le cellule SW480 presentano una morfologia di tipo epiteliale e ospitano mutazioni oncogeniche chiave, tra cui KRAS G12V, TP53 R273H e P309S, nonché una troncatura del gene APC; ciò rende questa linea un modello rilevante per lo studio del ruolo delle vie di segnalazione Wnt/ β -catenina e KRAS nel cancro del colon-retto. È importante sottolineare che la linea SW480 è stata derivata dallo stesso paziente della linea SW620, ma rappresenta il tumore primario, consentendo studi comparativi sulla biologia del carcinoma colorettale primario rispetto a quello metastatico.

L'integrazione stabile della luciferasi in SW480-Luc consente un'imaging bioluminescente (BLI) sensibile e quantitativo del carico tumorale in modelli di xenotrapianto sottocutaneo e ortotopico utilizzando ospiti immunocompromessi. Il segnale luminescente emesso è correlato al numero di cellule tumorali vitali, consentendo il monitoraggio longitudinale non invasivo dell'attecchimento del tumore, della cinetica di crescita e della risposta terapeutica. SW480-Luc è ampiamente utilizzato per la valutazione in vivo di agenti mirati a KRAS, inibitori della via di segnalazione Wnt e regimi chemioterapici nel carcinoma colorettale, nonché per studi comparativi con la linea metastatica corrispondente SW620.

SW480-Luc conserva le caratteristiche molecolari consolidate della linea parentale SW480, comprese le mutazioni di KRAS, TP53 e APC. La modifica con la luciferasi migliora notevolmente la produttività sperimentale e la sensibilità per gli studi farmacodinamici in vivo. I ricercatori dovrebbero verificare l'attività della luciferasi, il profilo mutazionale e la cinetica di crescita nelle loro specifiche condizioni sperimentali prima di un impiego preclinico su larga scala.

Organism

Umano

Tissue

Colon

Disease

Adenocarcinoma del colon

Caratteristiche

Age

51 anni

Gender

Uomo

Ethnicity

Caucasico

Morphology

Simile all'epitelio

SW480-Luc | 305698

Growth properties	Aderente
--------------------------	----------

Dati normativi

Citation	SW480-Luc (codice catalogo Cytion 305698)
-----------------	---

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_C8Y1
-----------------------------	-----------

GMO Status	GMO-S1: Questa linea cellulare contiene una cassetta reporter della luciferasi di lucciola (Luc2, ottimizzata a livello di codoni) integrata in modo stabile, introdotta tramite trasduzione lentivirale a replicazione incompetente. La popolazione cellulare policlonale risultante è stata mantenuta sotto selezione con puromicina (1–5 µg/mL). È richiesto il contenimento di classe S1. Questa classificazione è valida solo in Germania e potrebbe differire in altri paesi.
-------------------	---

Dati biomolecolari

Receptors expressed	Fattore di crescita epidermico (EGF), cheratina (colorazione con immunoperoxidasi). La matrilisina, una metalloproteinasi associata all'invasività del tumore, non è espressa.
----------------------------	--

Protein expression	Proteina P53; Luc2 (lucciola, ottimizzata a livello di codoni)
---------------------------	--

Antigen expression	HLA A2, B8, B17, gruppo sanguigno A, Rh+. Luc2 (lucciola, ottimizzato a livello di codoni)
---------------------------	--

Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1
-------------------	---

Tumorigenic	Sì, in topi nudi
--------------------	------------------

Viruses	Negativo alla trascrittasi inversa
----------------	------------------------------------

Virus susceptibility	Virus dell'immunodeficienza umana (HIV, LAV)
-----------------------------	--

Products	Antigene carcinoembrionale (CEA) 0,7 ng/106 cellule/10 giorni, cheratina, TGF-β. È stato segnalato che le cellule producono GM-CSF.
-----------------	---

SW480-Luc | 305698

Mutational profile	Mutazione: p.Gln1338Ter, omozigote; Mutazione: p.Gly12Val, omozigote; Mutazione: p.Arg273His, eterozigote; Mutazione: p.Pro309Ser, eterozigote
---------------------------	--

Manipolazione

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM di glutammina stabile, w: 1,0 mM di piruvato di sodio, w: 1,1 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820600a)
-----------------------	---

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
--------------------	---

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

Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
---------------------	---

Split ratio	da 1 a 3
--------------------	----------

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

Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
----------------------	-------------------------------

Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo + 10% DMSO per ottenere un'adeguata vitalità post-scongelo.
----------------------	--

SW480-Luc | 305698

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 200 x g per 5 minuti, scartando con cura il surnatante contenente il terreno di congelamento.
7. Seguire la procedura descritta in Recupero post-scongelo

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare