

Cellule SW480 | 300302

Informazioni generali

Description	La linea cellulare SW480 proviene da un campione chirurgico di un tumore primario di adenocarcinoma del colon moderatamente differenziato.
--------------------	--

Organism	Umano
-----------------	-------

Tissue	Colon
---------------	-------

Disease	Adenocarcinoma, grado IV, tipo Dukes B.
----------------	---

Synonyms	SW480, SW 480, SW480E
-----------------	-----------------------

Caratteristiche

Age	50 anni
------------	---------

Gender	Uomo
---------------	------

Ethnicity	Caucasico
------------------	-----------

Morphology	Simile all'epitelio
-------------------	---------------------

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

Dati normativi

Citation	SW-480 (numero di catalogo Cytion 300302)
-----------------	---

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

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

CellosaurusAccession	CVCL_0546
-----------------------------	-----------

Dati biomolecolari

Cellule SW480 | 300302

Receptors expressed	Fattore di crescita epidermico (EGF), cheratina (colorazione con immunoperossidasi). La matrilisina, una metalloproteinasi associata all'invasività del tumore, non è espressa.
Protein expression	Le cellule esprimono livelli elevati di proteina p53.
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, gruppo sanguigno A, Rh+. La linea è negativa per CSAp (CSAp-) e per l'antigene 3 del colon
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.
Mutational profile	Le cellule SW-480 portano una mutazione Kras omozigote nel codone 12: GGT(Wt Gly) >GTT(Val). Nel codone 273 del gene p53 è presente una mutazione G->A che determina una sostituzione Arg->His e una mutazione C->T nel codone 309 che determina una sostituzione Pro->Ser.

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
Doubling time	da 20 a 25 ore
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.

Cellule SW480 | 300302

Split ratio Si consiglia un rapporto da 1:2 a 1:8

Seeding density 1×10^4 cellule/cm²

Fluid renewal da 1 a 2 volte alla settimana

Post-Thaw Recovery Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a 5×10^4 cellule/cm² e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

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 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Cellule SW480 | 300302

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Flask Coating Nessuno

Freezing Procedure 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.

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

Sterility La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 13,14
D13S317: 12
D16S539: 13
D5S818: 13
D7S820: 8
TH01: 8
TPOX: 11
vWA: 16
D3S1358: 15
D21S11: 30,30.2
D18S51: 13
Penta E: 10
Penta D: 9,15
D8S1179: 13
FGA: 24

Cellule SW480 | 300302

Alleli HLA

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