

SW480-Luc | 305698

Bendra informacija

Description

SW480-Luc yra bioluminescencinis žmogaus storosios žarnos adenokarcinomos ląstelių linijos SW480 darinys, genetiškai modifikuotas taip, kad stabiliai ekspresuotų ugnies skruzdės liuciferazės reporterinį geną. Pirminė SW480 ląstelių linija buvo sukurta iš 51 metų amžiaus kaukazietiškos kilmės vyro pirminės storosios žarnos adenokarcinomos ir yra plačiai naudojama kaip pirminio storosios žarnos vėžio modelis. SW480 ląstelės pasižymi epitelio tipo morfologija ir turi pagrindines onkogenines mutacijas, įskaitant KRAS G12V, TP53 R273H ir P309S bei APC trūkį, todėl ši linija yra tinkamas modelis Wnt/ β -katenino ir KRAS signalizacijos vaidmeniui storosios žarnos vėžio tyrimuose. Svarbu pažymėti, kad SW480 linija buvo išskirta iš to paties paciento kaip ir SW620, tačiau atspindi pirminį naviką, todėl leidžia atlikti lyginamuosius pirminio ir metastazinio storosios žarnos vėžio biologijos tyrimus.

Stabili liuciferazės integracija SW480-Luc linijoje leidžia atlikti jautrų, kiekybinį naviko apkrovos bioluminescencinį vaizdavimą (BLI) poodiniuose ir ortotopiniuose ksenotransplantatų modeliuose, naudojant imunokompromituotus šeimininkus. Išskiriamas liuminescencinis signalas koreliuoja su gyvybingų naviko ląstelių skaičiumi, o tai leidžia neinvaziniu būdu stebėti naviko įsitvirtinimą, augimo kinetiką ir atsaką į gydymą. SW480-Luc plačiai naudojama KRAS taikinio vaistų, Wnt signalo kelio inhibitorių ir chemoterapinių schemų vertinimui in vivo storosios žarnos vėžio atveju, taip pat lyginamiesiems tyrimams su atitinkama metastazine SW620 linija.

SW480-Luc išlaiko nustatytas tėvinės SW480 linijos molekulines savybes, įskaitant KRAS, TP53 ir APC mutacijas. Liuciferazės modifikacija žymiai padidina eksperimentų našumą ir jautrumą atliekant in vivo farmakodinaminius tyrimus. Prieš pradėdant didelio masto ikiklinikinius tyrimus, mokslininkai turėtų patikrinti liuciferazės aktyvumą, mutacijų profilį ir augimo kinetiką savo konkrečiomis eksperimentinėmis sąlygomis.

Organism Žmogus

Tissue Storosios žarnos

Disease Storosios žarnos adenokarcinoma

Charakteristikos

Age 51 metai

Gender Vyras

Ethnicity Kaukaziečių

Morphology Į epitelį panašus

Growth properties Prigludęs

SW480-Luc | 305698

Reguliavimo duomenys

Citation	SW480-Luc (Cytion katalogo numeris 305698)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C8Y1
GMO Status	GMO-S1: Šioje ląstelių linijoje yra stabiliai integruota jonvabalių liuciferazės reporterinė kasetė (Luc2, kodonų atžvilgiu optimizuota), įterpta naudojant replikacijos nesugebančią lentivirusinę transdukciją. Gauta polikloninė ląstelių populiacija buvo išlaikyta atliekant selekciją puromicinu (1–5 µg/mL). Reikalaujamas S1 saugumo lygis. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed	Epidermio augimo faktorius (EGF), keratinas (imunoperoksidazės dažymas). Matrilizinas, metaloproteinazė, siejama su naviko invazyvumu, nėra išreikšta.
Protein expression	P53 baltymas; Luc2 (vabzdžių švyturėlis, kodonų atžvilgiu optimizuotas)
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, A kraujo grupė, Rh+. Luc2 (žibintuvėlis, kodonų optimizacija)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1
Tumorigenic	Taip, su nuogomis pelėmis
Viruses	Atvirkštinės transkriptazės neigiamas
Virus susceptibility	Žmogaus imunodeficit virusas (ŽIV, LAV)
Products	Karcinoembrioninis antigenas (CEA) 0,7 ng/106 ląstelių/10 dienų, keratinas, TGF-β. Pranešama, kad ląstelės gamina GM-CSF.
Mutational profile	Mutacija: p.Gln1338Ter, homozigotinė; mutacija: p.Gly12Val, homozigotinė; mutacija: p.Arg273His, heterozigotinė; mutacija: p.Pro309Ser, heterozigotinė

Tvarkymas

SW480-Luc | 305698

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilus glutaminas, w: 1,0 mM natrio piruvatas, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820600a)
-----------------------	--

Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
--------------------	----------------------------

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

Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
---------------------	---

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

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

Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
----------------------	------------------------

Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo.
----------------------	--

SW480-Luc | 305698

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $200 \times g$ greičiu 5 minutes, atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpe.
7. Atlikite procedūrą, aprašytą skyriuje "Atkūrimas po atšildymo"

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė