

SW480-Luc | 305698

Vispārīga informācija

Description

SW480-Luc ir cilvēka SW480 resnās zarnas adenokarcinomas šūnu līnijas bioluminiscentis atvasinājums, kas ģenētiski modificēts, lai stabili ekspresētu ugunskurku luciferāzes reportergēnu. Sākotnējā SW480 šūnu līnija tika izveidota no 51 gadu veca kaukāziešu izcelsmes vīrieša primārās resnās zarnas adenokarcinomas un tiek plaši izmantota kā primārā kolorektālā vēža modelis. SW480 šūnas uzrāda epitēlija tipa morfoloģiju un satur galvenās onkogēnās mutācijas, tostarp KRAS G12V, TP53 R273H un P309S, kā arī APC truncāciju, padarot šo līniju par atbilstošu modeli Wnt/ β -katenīna un KRAS signālceļu lomas izpētei kolorektālajā vēzī. Svarīgi, ka SW480 tika iegūta no tā paša pacienta kā SW620, taču tā pārstāv primāro audzēju, kas ļauj veikt salīdzinošus pētījumus par primārā un metastātiskā kolorektālā vēža bioloģiju.

Stabila luciferāzes integrācija SW480-Luc ļauj veikt jutīgu, kvantitatīvu bioluminiscences attēlveidošanu (BLI) audzēja slodzes novērtēšanai subkutānos un ortotopiskos ksenotransplantātu modeļos, izmantojot imūndeficītus saņēmējus. Izstarotais luminiscences signāls korelē ar dzīvotspējīgo audzēja šūnu skaitu, nodrošinot neinvazīvu audzēja iesakņošanās, augšanas kinētikas un terapeitiskās atbildes garenvirziena novērošanu. SW480-Luc tiek plaši izmantots KRAS mērķa līdzekļu, Wnt signālceļa inhibitoru un ķīmijterapijas shēmu in vivo novērtēšanai kolorektālajā vēzī, kā arī salīdzinošiem pētījumiem ar atbilstošo metastātisko SW620 līniju.

SW480-Luc saglabā vecāklīnijas SW480 molekulārās īpašības, tostarp KRAS, TP53 un APC mutācijas. Luciferāzes modifikācija ievērojami palielina eksperimentālo caurlaidspēju un jutību in vivo farmakodinamiskajos pētījumos. Pirms plaša pirmsklīniskā pielietojuma pētīšanai ir jāpārbauda luciferāzes aktivitāte, mutāciju profils un augšanas kinētika savos konkrētajos eksperimentālajos apstākļos.

Organism

Cilvēks

Tissue

Resnās zarnas

Disease

Resnās zarnas adenokarcinoma

Raksturojums

Age

51 gads

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Epitēlijveidīgs

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

SW480-Luc | 305698

Citation	SW480-Luc (Cytion kataloga numurs 305698)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C8Y1
GMO Status	GMO-S1: Šī šūnu līnija satur stabili integrētu ugunskrēsliņa luciferāzes reporterkāsešu (Luc2, kodonu optimizēta), kas ievadīta, izmantojot replikācijas nespējīgu lentivīrusa transdukciju. Iegūtā poliklonālā šūnu populācija tika uzturēta puromicīna selekcijas apstākļos (1–5 µg/ml). Ir nepieciešama S1 drošības klase. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Receptors expressed	Epidermas augšanas faktors (EGF), keratīns (imūnperoksidāzes krāsojums). Matrilizīns, metaloproteināze, kas saistīta ar audzēja invazivitāti, nav izteikts.
Protein expression	P53 proteīns; Luc2 (spožā muša, kodonu optimizēts)
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, asinsgrupa A, Rh+. Luc2 (spožā muša, kodonu optimizēts)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1
Tumorigenic	Jā, kailām pelēm
Viruses	Reversā transkriptāze negatīva
Virus susceptibility	Cilvēka imūndeficīta vīruss (HIV, LAV)
Products	Karcinoembrionālais antigēns (CEA) 0,7 ng/106 šūnu/10 dienu, keratīns, TGF-β. Ir ziņots, ka šūnas ražo GM-CSF.
Mutational profile	Mutācija: p.Gln1338Ter, homozigots; Mutācija: p.Gly12Val, homozigots; Mutācija: p.Arg273His, heterozigots; Mutācija: p.Pro309Ser, heterozigots

Darbs ar

Culture Medium	Hama F12, w: 1,0 mM stabils glutamīns, w: 1,0 mM nātrija piruvāts, w: 1,1 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820600a)
----------------	---

SW480-Luc | 305698

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Split ratio no 1 līdz 3

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

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150°C , lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie $200 \times g$ 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

SW480-Luc | 305698

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze