

SW480-Luc | 305698

Algemene informatie

Description

SW480-Luc is een bioluminescent derivaat van de menselijke SW480-adenocarcinoomcellijn van de dikke darm, dat genetisch is gemodificeerd om op stabiele wijze een vuurvlieg-luciferase-reportergen tot expressie te brengen. De oorspronkelijke SW480-cel lijn is opgezet uit een primair colonadenocarcinoom van een 51-jarige blanke mannelijke patiënt en wordt op grote schaal gebruikt als model voor primaire colorectale kanker. SW480-cellen vertonen een epitheelachtige morfologie en bevatten belangrijke oncogene mutaties, waaronder KRAS G12V, TP53 R273H en P309S, en APC-truncatie, waardoor deze lijn een relevant model is voor het bestuderen van de rol van Wnt/ β -catenine- en KRAS-signalering bij colorectale kanker. Belangrijk is dat SW480, net als SW620, afkomstig is van dezelfde patiënt, maar de primaire tumor vertegenwoordigt, waardoor vergelijkende studies mogelijk zijn naar de biologie van primaire versus gemetastaseerde colorectale kanker.

De stabiele integratie van luciferase in SW480-Luc maakt gevoelige, kwantitatieve bioluminescentiebeeldvorming (BLI) mogelijk van de tumorbelasting in subcutane en orthotopie xenotransplantaatmodellen met immuungecompromitteerde gastheerorganismen. Het uitgezonden luminescentiesignaal correleert met het aantal levensvatbare tumorcellen, wat niet-invasieve longitudinale monitoring van de tumorengrafting, de groeikinetiek en de therapeutische respons mogelijk maakt. SW480-Luc wordt op grote schaal gebruikt voor in-vivo-evaluatie van KRAS-gerichte middelen, Wnt-route-remmers en chemotherapeutische behandelingen bij colorectale kanker, evenals voor vergelijkende studies met de bijbehorende metastatische SW620-lijn.

SW480-Luc behoudt de gevestigde moleculaire kenmerken van de oorspronkelijke SW480-lijn, waaronder KRAS-, TP53- en APC-mutaties. De luciferase-modificatie verhoogt de experimentele doorvoer en gevoeligheid voor in vivo farmacodynamische studies aanzienlijk. Onderzoekers dienen de luciferase-activiteit, het mutatieprofiel en de groeikinetiek onder hun specifieke experimentele omstandigheden te verifiëren alvorens de lijn op grote schaal in preklinisch onderzoek in te zetten.

Organism

Mens

Tissue

Kolon

Disease

Colonadenocarcinoom

Kenmerken

Age

51 jaar

Gender

Mannelijk

Ethnicity

Kaukasisch

Morphology

Epitheelachtig

SW480-Luc | 305698

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens**Citation**

SW480-Luc (Cytion-catalogusnummer 305698)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_C8Y1

GMO Status

GMO-S1: Deze cellijn bevat een stabiel geïntegreerde vuurvlieg-luciferase-reportercassette (Luc2, codon-geoptimaliseerd) die is ingebracht via replicatie-incompetente lentivirale transductie. De resulterende polyklonale celpopulatie werd in stand gehouden onder puromycineselectie (1–5 µg/mL). S1-beheersingsniveau is vereist. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens**Receptors expressed**

Epidermale groeifactor (EGF), keratine (immunoperoxidase kleuring). Matrilysine, een metalloproteïnase geassocieerd met tumorinvasiviteit, komt niet tot expressie.

Protein expression

P53-eiwit; Luc2 (vuurvlieg, codon-geoptimaliseerd)

Antigen expression

HLA A2, B8, B17, bloedgroep A, Rh+. Luc2 (vuurvlieg, codon-geoptimaliseerd)

Isoenzymes

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

Tumorigenic

Ja, in naakte muizen

Viruses

Omgekeerde transcriptase negatief

Virus susceptibility

Humaan immunodeficiëntievirus (HIV, LAV)

Products

Carcinoembryonisch antigeen (CEA) 0,7 ng/106 cellen/10 dagen, keratine, TGF-β. De cellen produceren naar verluidt GM-CSF.

SW480-Luc | 305698

Mutational profile	Mutatie: p.Gln1338Ter, Homozygoot; Mutatie: p.Gly12Val, Homozygoot; Mutatie: p.Arg273His, Heterozygoot; Mutatie: p.Pro309Ser, Heterozygoot
---------------------------	--

Omgaan met

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabiele Glutamine, w: 1,0 mM natriumpyruvaat, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820600a)
-----------------------	--

Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
--------------------	--------------------------------

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

Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugerende bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
---------------------	--

Split ratio	1 tot en met 3
--------------------	----------------

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

Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
----------------------	-----------------------

Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien.
----------------------	--

SW480-Luc | 305698

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150°C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37°C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open de gedesinfecteerde flacon voorzichtig en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 5 minuten bij $200 \times g$ en gooi het supernatant met vriesmedium voorzichtig weg.
7. Volg de procedure beschreven onder Herstel na ontdooien

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78°C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196°C . Opslag bij -80°C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse