

SW480-cellen | 300302

Algemene informatie

Description	De SW480-cellijn is afkomstig van een chirurgisch monster van een primaire tumor van een matig gedifferentieerd colonadenocarcinoom.
Organism	Mens
Tissue	Kolon
Disease	Adenocarcinoom, graad IV, Dukes' type B.
Synonyms	SW480, SW 480, SW480E

Kenmerken

Age	50 jaar
Gender	Mannelijk
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Epitheelachtig
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	SW-480 (Cytion catalogusnummer 300302)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0546

Biomoleculaire gegevens

SW480-cellen | 300302

Receptors expressed	Epidermale groeifactor (EGF), keratine (immunoperoxidase kleuring). Matrilysine, een metalloproteïnase geassocieerd met tumorinvasiviteit, komt niet tot expressie.
Protein expression	De cellen brengen verhoogde niveaus van p53-eiwit tot expressie.
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, bloedgroep A, Rh+. De lijn is negatief voor CSAp (CSAp-) en colonantigeen 3
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.
Mutational profile	SW-480 cellen dragen een homozygote Kras-mutatie in codon 12: GGT(Wt Gly) >GTT(Val). Er is een G->A mutatie in codon 273 van het p53-gen die resulteert in een Arg->His substitutie en een C->T mutatie in codon 309 die resulteert in een Pro->Ser substitutie.

Omgaan met

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabiele Glutamine, w: 1,0 mM natriumpyruvaat, w: 1,1 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820600a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20 tot 25 uur
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 centrifugereren 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.

SW480-cellen | 300302

Split ratio Een verhouding van 1:2 tot 1:8 wordt aanbevolen

Seeding density 1×10^4 cellen/cm²

Fluid renewal 1 tot 2 keer per week

Post-Thaw Recovery Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5×10^4 cellen/cm² en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

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 voorzichtig de gedesinfecteerde flacon 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 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

SW480-cellen | 300302

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2} bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating Geen

Freezing Procedure 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.

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 / Genetisch profiel / HLA

Sterility Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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

SW480-cellen | 300302

HLA-allelen

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