

SW480-Luc | 305698

Generell informasjon

Description

SW480-Luc er et bioluminescerende derivat av den humane SW480-cellelinjen for adenokarsinom i tykktarmen, som er genetisk modifisert til å uttrykke et reportergen for ildflue-luciferase på en stabil måte. Den opprinnelige SW480-cellelinjen ble etablert fra et primært adenokarsinom i tykktarmen hos en 51 år gammel kaukasisk mannlig pasient og brukes mye som modell for primær kolorektal kreft. SW480-celler har en epitellignende morfologi og bærer viktige onkogene mutasjoner, inkludert KRAS G12V, TP53 R273H og P309S, samt APC-trunkering, noe som gjør denne linjen til en relevant modell for å studere rollen til Wnt/ β -katenin- og KRAS-signaler i kolorektal kreft. Det er viktig å merke seg at SW480 stammer fra samme pasient som SW620, men representerer primærtumoren, noe som muliggjør sammenlignende studier av biologien til primær versus metastatisk kolorektal kreft.

Den stabile luciferase-integrasjonen i SW480-Luc muliggjør sensitiv, kvantitativ bioluminescensavbildning (BLI) av tumorbyrden i subkutane og ortotopiske xenotransplantatmodeller ved bruk av immunsvekkede verter. Det utsendte luminescenssignalet korrelerer med antall levedyktige tumorceller, noe som muliggjør ikke-invasiv longitudinell overvåking av tumorinnpodning, vekstkinetikk og terapeutisk respons. SW480-Luc brukes mye til in vivo-evaluering av KRAS-målrettede midler, Wnt-signalveihemmere og kjemoterapeutiske behandlingsregimer ved kolorektal kreft, samt til sammenlignende studier med den tilsvarende metastatiske SW620-linjen.

SW480-Luc beholder de etablerte molekulære egenskapene til den opprinnelige SW480-linjen, inkludert KRAS-, TP53- og APC-mutasjoner. Luciferase-modifikasjonen forbedrer eksperimentell gjennomstrømning og følsomhet for farmakodynamiske studier in vivo betydelig. Forskere bør verifisere luciferaseaktivitet, mutasjonsprofil og vekstkinetikk under sine spesifikke eksperimentelle forhold før storskala preklinisk bruk.

Organism

Menneskelig

Tissue

Colon

Disease

Adenokarsinom i tykktarmen

Kjennetegn

Age

51 år

Gender

Mann

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Epitel-lignende

Growth properties

Vedhengende

SW480-Luc | 305698

Regulatoriske data

Citation	SW480-Luc (Cytion-katalognummer 305698)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C8Y1
GMO Status	GMO-S1: Denne cellelinjen inneholder en stabilt integrert reporter-kassett med ildflue-luciferase (Luc2, kodonoptimalisert) som er innført via replikasjonsinkompetent lentiviral transduksjon. Den resulterende polyklonale cellepopulasjonen ble opprettholdt under puromycin-seleksjon (1–5 µg/mL). S1-sikkerhetsnivå er påkrevd. Denne klassifiseringen gjelder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Receptors expressed	Epidermal vekstfaktor (EGF), keratin (immunoperoksidasefarging). Matrilysin, en metalloproteinase som er assosiert med tumorinvasivitet, uttrykkes ikke.
Protein expression	P53-protein; Luc2 (ildflue, kodonoptimalisert)
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, blodtype A, Rh+. Luc2 (ildflue, kodonoptimalisert)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1
Tumorigenic	Ja, i nakne mus
Viruses	Revers transkriptase negativ
Virus susceptibility	Humant immunsviktvirus (HIV, LAV)
Products	Carcinoembryonalt antigen (CEA) 0,7 ng/106 celler/10 dager, keratin, TGF-β. Det er rapportert at cellene produserer GM-CSF.
Mutational profile	Mutasjon: p.Gln1338Ter, homozygot; Mutasjon: p.Gly12Val, homozygot; Mutasjon: p.Arg273His, heterozygot; Mutasjon: p.Pro309Ser, heterozygot

Håndtering

SW480-Luc | 305698

Culture Medium	Ham's F12, m: 1,0 mM stabil glutamin, m: 1,0 mM natriumpyruvat, m: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820600a)
-----------------------	---

Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
--------------------	-----------------------------

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

Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
---------------------	---

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

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

Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
----------------------	------------------------

Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium + 10 % DMSO for å sikre tilstrekkelig levedyktighet etter opptining.
----------------------	---

SW480-Luc | 305698

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $200 \times g$ i 5 minutter, og kast supernatanten som inneholder frysemedium, forsiktig.
7. Følg prosedyren som er beskrevet under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellerlinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196°C . Lagring ved -80°C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse