

SW480-celler | 300302

Generell informasjon

Description	SW480-cellelinjen stammer fra en kirurgisk prøve av en primærsvulst av et moderat differensiert tykktarmsadenokarsinom.
Organism	Menneskelig
Tissue	Colon
Disease	Adenokarsinom, grad IV, Dukes' type B.
Synonyms	SW480, SW 480, SW480E

Kjennetegn

Age	50 år
Gender	Mann
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Vedhengende

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

SW480-celler | 300302

Receptors expressed	Epidermal vekstfaktor (EGF), keratin (immunoperoxidasefarging). Matrilysin, en metalloproteinase som er assosiert med tumorinvasivitet, uttrykkes ikke.
Protein expression	Cellene uttrykker forhøyede nivåer av p53-protein.
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, blodtype A, Rh+. Linjen er negativ for CSAp (CSAp-) og kolonantigen 3
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 immunsviktivirus (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	SW-480-celler bærer en homozygot Kras-mutasjon i kodon 12: GGT(Wt Gly) >GTT(Val). Det er en G->A-mutasjon i kodon 273 i p53-genet som resulterer i en Arg->His-substitusjon, og en C->T-mutasjon i kodon 309 som resulterer i en Pro->Ser-substitusjon.

Håndtering

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
Doubling time	20 til 25 timer
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.

SW480-celler | 300302

Split ratio Et forhold på 1:2 til 1:8 anbefales

Seeding density 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 1 til 2 ganger per uke

Post-Thaw Recovery Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

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 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, befuktet atmosfære.

SW480-celler | 300302**Flask Coating**

Ingen

Freezing Procedure

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.

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**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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-celler | 300302

HLA-alleler

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