

SW480-Luc | 305698

Informacje ogólne

Description

SW480-Luc to bioluminescencyjna odmiana ludzkiej linii komórkowej SW480 pochodzącej z gruczolaka jelita grubego, zmodyfikowana genetycznie w celu stabilnej ekspresji genu reporterowego lucyferazy świetlika. Pierwotna linia komórkowa SW480 została wyhodowana z pierwotnego gruczolaka jelita grubego 51-letniego pacjenta rasy kaukaskiej i jest szeroko stosowana jako model pierwotnego raka jelita grubego. Komórki SW480 wykazują morfologię podobną do nabłonkowej i zawierają kluczowe mutacje onkogenne, w tym KRAS G12V, TP53 R273H i P309S oraz skrócenie genu APC, co sprawia, że linia ta stanowi odpowiedni model do badania roli szlaków sygnałowych Wnt/ β -kateniny i KRAS w raku jelita grubego. Co istotne, linia SW480 pochodzi od tego samego pacjenta co linia SW620, ale reprezentuje nowotwór pierwotny, co umożliwia badania porównawcze biologii pierwotnego raka jelita grubego w porównaniu z rakiem przerzutowym.

Stabilna integracja lucyferazy w linii SW480-Luc umożliwia czułe, ilościowe obrazowanie bioluminescencyjne (BLI) obciążenia nowotworowego w modelach przeszczepów podskórnych i ortotopowych z wykorzystaniem gospodarzy z obniżoną odpornością. Emitowany sygnał luminescencyjny koreluje z liczbą żywych komórek nowotworowych, umożliwiając nieinwazyjne monitorowanie w czasie długoterminowym wszczepienia guza, kinetyki wzrostu oraz odpowiedzi na leczenie. Linia SW480-Luc jest szeroko stosowana do oceny in vivo leków ukierunkowanych na gen KRAS, inhibitorów szlaku Wnt oraz schematów chemioterapii w raku jelita grubego, a także do badań porównawczych z dopasowaną linią SW620 o charakterze przerzutowym.

SW480-Luc zachowuje ustalone cechy molekularne macierzystej linii SW480, w tym mutacje genów KRAS, TP53 i APC. Modyfikacja lucyferazowa znacznie zwiększa wydajność eksperymentalną i czułość badań farmakodynamicznych in vivo. Przed zastosowaniem na szeroką skalę w badaniach przedklinicznych naukowcy powinni zweryfikować aktywność lucyferazy, profil mutacji oraz kinetykę wzrostu w swoich konkretnych warunkach eksperymentalnych.

Organism Człowiek

Tissue Colon

Disease Gruczolakorak okrężnicy

Charakterystyka

Age 51 lat

Gender Męczyzna

Ethnicity Kaukaski

Morphology Podobny do nabłonka

Growth properties Adherent

SW480-Luc | 305698

Dane regulacyjne

Citation	SW480-Luc (numer katalogowy Cytion 305698)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C8Y1
GMO Status	GMO-S1: Ta linia komórkowa zawiera stabilnie zintegrowaną kasetę reporterową z lucyferazą świetlika (Luc2, zoptymalizowaną pod kątem kodonów), wprowadzoną za pomocą transdukcji lentiwirusowej bez zdolności do replikacji. Powstałą populację komórek poliklonalnych utrzymywano pod selekcją puromycyną (1–5 µg/ml). Wymagany jest poziom bezpieczeństwa S1. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Receptors expressed	Naskórkowy czynnik wzrostu (EGF), keratyna (barwienie immunoperoksydazą). Matrylizyna, metaloproteinaza związana z inwazyjnością guza, nie ulega ekspresji.
Protein expression	Białko P53; Luc2 (świećlik, zoptymalizowane pod kątem kodonów)
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, grupa krwi A, Rh+. Luc2 (świećlik, zoptymalizowany pod kątem kodonów)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1
Tumorigenic	Tak, u nagich myszy
Viruses	Ujemny wynik odwrotnej transkryptazy
Virus susceptibility	Ludzki wirus niedoboru odporności (HIV, LAV)
Products	Antygen rakowo-płodowy (CEA) 0,7 ng/106 komórek/10 dni, keratyna, TGF-β. Stwierdzono, że komórki wytwarzają GM-CSF.
Mutational profile	Mutacja: p.Gln1338Ter, homozygotyczna; Mutacja: p.Gly12Val, homozygotyczna; Mutacja: p.Arg273His, heterozygotyczna; Mutacja: p.Pro309Ser, heterozygotyczna

SW480-Luc | 305698

Obsługa

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilnej glutaminy, w: 1,0 mM pirogronianu sodu, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820600a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	od 1 do 3
Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

SW480-Luc | 305698

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $200 \times g$ przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania.
7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna