

Komórki SW480 | 300302

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa SW480 pochodzi z próbki chirurgicznej guza pierwotnego umiarkowanie zróżnicowanego gruczolaka okrężnicy.
Organism	Człowiek
Tissue	Colon
Disease	Gruczolakorak, stopień IV, typ B wg Duke'a.
Synonyms	SW480, SW 480, SW480E

Charakterystyka

Age	50 lat
Gender	Męczyzna
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Podobny do nabłonka
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	SW-480 (numer katalogowy Cytion 300302)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellSaurusAccession	CVCL_0546

Dane biomolekularne

Komórki SW480 | 300302

Receptors expressed	Naskórkowy czynnik wzrostu (EGF), keratyna (barwienie immunoperoxydazą). Matrylizyna, metaloproteinaza związana z inwazyjnością guza, nie ulega ekspresji.
Protein expression	Komórki wyrażają podwyższony poziom białka p53.
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, grupa krwi A, Rh+. Linia jest ujemna dla CSAp (CSAp-) i antygeny okrężnicy 3
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	Komórki SW-480 są nosicielami homozygotycznej mutacji Kras w kodonie 12: GGT(Wt Gly) >GTT(Val). Występuje mutacja G->A w kodonie 273 genu p53 skutkująca substytucją Arg->His oraz mutacja C->T w kodonie 309 skutkująca substytucją Pro->Ser.

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
Doubling time	20 do 25 godzin
Subculturing	Usun 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.

Komórki SW480 | 300302

Split ratio Zalecane są proporcje od 1:2 do 1:8

Seeding density 1×10^4 komórek/cm²

Fluid renewal 1 do 2 razy w tygodniu

Post-Thaw Recovery Po rozmrożeniu umieścić komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostawić na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**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 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Komórki SW480 | 300302

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, nawilżona atmosfera.

Flask Coating Brak

Freezing Procedure 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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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

Sterility Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Komórki SW480 | 300302

Profil STR

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

Allele HLA

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