

SW480-Luc | 305698

Informações gerais

Description

A SW480-Luc é um derivado bioluminescente da linha celular humana SW480 de adenocarcinoma do cólon, modificada geneticamente para expressar de forma estável um gene repórter de luciferase de pirilampo. A linha celular parental SW480 foi estabelecida a partir de um adenocarcinoma primário do cólon de um doente do sexo masculino, de etnia caucasiana, com 51 anos de idade, e é amplamente utilizada como modelo de cancro colorretal primário. As células SW480 apresentam uma morfologia de tipo epitelial e contêm mutações oncogénicas importantes, incluindo KRAS G12V, TP53 R273H e P309S, bem como um truncamento do APC, tornando esta linha um modelo relevante para o estudo do papel das vias de sinalização Wnt/ β -catenina e KRAS no cancro colorretal. É importante referir que a linha SW480 foi derivada do mesmo doente que a linha SW620, mas representa o tumor primário, permitindo estudos comparativos da biologia do cancro colorretal primário em relação ao metastático.

A integração estável da luciferase na SW480-Luc permite a obtenção de imagens de bioluminescência (BLI) sensíveis e quantitativas da carga tumoral em modelos de xenoinxertos subcutâneos e ortotópicos utilizando hospedeiros imunocomprometidos. O sinal luminescente emitido está correlacionado com o número de células tumorais viáveis, permitindo a monitorização longitudinal não invasiva do enxerto tumoral, da cinética de crescimento e da resposta terapêutica. A SW480-Luc é amplamente utilizada para a avaliação in vivo de agentes direcionados ao KRAS, inibidores da via Wnt e regimes quimioterapêuticos no cancro colorretal, bem como para estudos comparativos com a linha metastática correspondente SW620.

A SW480-Luc mantém as características moleculares estabelecidas da linha parental SW480, incluindo mutações em KRAS, TP53 e APC. A modificação com luciferase aumenta substancialmente o rendimento experimental e a sensibilidade para estudos farmacodinâmicos in vivo. Os investigadores devem verificar a atividade da luciferase, o perfil mutacional e a cinética de crescimento nas suas condições experimentais específicas antes da utilização pré-clínica em grande escala.

Organism

Humano

Tissue

Cólon

Disease

Adenocarcinoma do cólon

Caraterísticas

Age

51 anos

Gender

Masculino

Ethnicity

Caucasiano

Morphology

De tipo epitelial

SW480-Luc | 305698

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares**Citation**

SW480-Luc (número de catálogo da Cytion 305698)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_C8Y1

GMO Status

GMO-S1: Esta linha celular contém uma cassete repórter de luciferase de pirilampo (Luc2, com códons otimizados) integrada de forma estável, introduzida através de transdução lentiviral incompetente para replicação. A população celular policlonal resultante foi mantida sob seleção com puromicina (1–5 µg/mL). É necessário o nível de contenção S1. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares**Receptors expressed**

Fator de crescimento epidérmico (EGF), queratina (coloração com imunoperoxidase). A matrilisina, uma metaloproteinase associada à invasividade do tumor, não está expressa.

Protein expression

Proteína P53; Luc2 (pirilampo, com códons otimizados)

Antigen expression

HLA A2, B8, B17, grupo sanguíneo A, Rh+. Luc2 (vaga-lume, com códons otimizados)

Isoenzymes

G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1

Tumorigenic

Sim, em ratinhos nus

Viruses

Transcriptase reversa negativa

Virus susceptibility

Vírus da imunodeficiência humana (VIH, VLA)

Products

Antigénio carcinoembrionário (CEA) 0,7 ng/106 células/10 dias, queratina, TGF-β. Foi registado que as células produzem GM-CSF.

SW480-Luc | 305698

Mutational profile	Mutação: p.Gln1338Ter, Homozigótico; Mutação: p.Gly12Val, Homozigótico; Mutação: p.Arg273His, Heterozigótico; Mutação: p.Pro309Ser, Heterozigótico
---------------------------	--

Manuseamento

Culture Medium	Ham's F12, com: 1,0 mM de glutamina estável, com: 1,0 mM de piruvato de sódio, com: 1,1 g/L NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820600a)
-----------------------	--

Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
--------------------	---------------------------------

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

Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
---------------------	---

Split ratio	1 a 3
--------------------	-------

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

Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
----------------------	------------------------

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo + 10% de DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada.
----------------------	---

SW480-Luc | 305698

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $200 \times g$ durante 5 minutos e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação.
7. Seguir o procedimento descrito em Recuperação pós-descongelamento

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196°C . O armazenamento a -80°C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular