

SW480-Luc | 305698

Informații generale

Description

SW480-Luc este un derivat bioluminiscent al liniei celulare umane SW480 de adenocarcinom de colon, modificată genetic pentru a exprima în mod stabil o genă reporteră de luciferază de licurici. Linia celulară parentală SW480 a fost obținută dintr-un adenocarcinom primar de colon al unui pacient de sex masculin, de rasă caucaziană, în vârstă de 51 de ani, și este utilizată pe scară largă ca model de cancer colorectal primar. Celulele SW480 prezintă o morfologie de tip epitelial și conțin mutații oncogene cheie, inclusiv KRAS G12V, TP53 R273H și P309S, precum și trunchierea APC, ceea ce face ca această linie să fie un model relevant pentru studierea rolului semnalizării Wnt/ β -catenină și KRAS în cancerul colorectal. Este important de menționat că linia SW480 a fost derivată de la același pacient ca și linia SW620, dar reprezintă tumora primară, permițând studii comparative privind biologia cancerului colorectal primar față de cea a celui metastatic.

Integrarea stabilă a luciferazei în SW480-Luc permite imagistica sensibilă și cantitativă prin bioluminescență (BLI) a încărcăturii tumorale în modele de xenogrefă subcutanată și ortotopică, utilizând gazde imunocompromise. Semnalul luminescent emis se corelează cu numărul de celule tumorale viabile, facilitând monitorizarea longitudinală neinvazivă a grefării tumorii, a cineticii de creștere și a răspunsului terapeutic. SW480-Luc este utilizat pe scară largă pentru evaluarea in vivo a agenților care vizează KRAS, a inhibitorilor căii Wnt și a regimurilor chimioterapeutice în cancerul colorectal, precum și pentru studii comparative cu linia metastatică corespunzătoare SW620.

SW480-Luc păstrează caracteristicile moleculare stabilite ale liniei parentale SW480, inclusiv mutațiile KRAS, TP53 și APC. Modificarea cu luciferază îmbunătățește substanțial randamentul experimental și sensibilitatea pentru studiile farmacodinamice in vivo. Cercetătorii ar trebui să verifice activitatea luciferazei, profilul mutațional și cinetica de creștere în condițiile lor experimentale specifice înainte de utilizarea preclinică la scară largă.

Organism

Om

Tissue

Colon

Disease

Adenocarcinom de colon

Caracteristici

Age

51 de ani

Gender

Masculin

Ethnicity

Caucasian

Morphology

De tip epitelial

Growth properties

Aderent

SW480-Luc | 305698

Date de reglementare

Citation	SW480-Luc (număr de catalog Cytion 305698)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C8Y1
GMO Status	GMO-S1: Această linie celulară conține o casetă reporter de luciferază de licurici (Luc2, optimizată la nivel de codon) integrată stabil, introdusă prin transducție lentivirală incompetentă din punct de vedere al replicării. Populația celulară policlonală rezultată a fost menținută sub selecție cu puromicină (1–5 µg/mL). Este necesară izolarea de tip S1. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

Date biomoleculare

Receptors expressed	Factor de creștere epidermică (EGF), keratină (colorare cu imunoperoxidază). Matrilizina, o metaloproteinază asociată cu invazia tumorală, nu este exprimată.
Protein expression	Proteina P53; Luc2 (licurici, optimizată la nivel de codon)
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, grupa sanguină A, Rh+. Luc2 (licurici, optimizat la nivel de codon)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1
Tumorigenic	Da, la șoareci nude
Viruses	Transcriptază inversă negativă
Virus susceptibility	Virusul imunodeficienței umane (HIV, LAV)
Products	Antigen carcinoembrionar (CEA) 0,7 ng/106 celule/10 zile, keratină, TGF-β. S-a raportat că celulele produc GM-CSF.
Mutational profile	Mutație: p.Gln1338Ter, Homozigotă; Mutație: p.Gly12Val, Homozigotă; Mutație: p.Arg273His, Heterozigotă; Mutație: p.Pro309Ser, Heterozigotă

SW480-Luc | 305698

Manipulare

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM glutamină stabilă, w: 1,0 mM piruvat de sodiu, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (număr articol Cytion 820600a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Split ratio	1-3
Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare.

SW480-Luc | 305698

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 200 x g timp de 5 minute, se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare.
7. Se urmează procedura descrisă la secțiunea Recuperare după decongelare

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară