

SW480-Luc | 305698

Allmän information

Description

SW480-Luc är en bioluminescerande variant av den humana SW480-cellinjen för adenokarcinom i tjocktarmen, som har modifierats för att stabilt uttrycka ett reportergen baserat på eldfluga-luciferas. Den ursprungliga SW480-cellinjen etablerades från ett primärt adenokarcinom i tjocktarmen hos en 51-årig kaukasisk manlig patient och används i stor utsträckning som modell för primär kolorektal cancer. SW480-celler uppvisar epitelial liknande morfologi och bär på viktiga onkogen mutationer, inklusive KRAS G12V, TP53 R273H och P309S samt APC-trunkering, vilket gör denna cellinje till en relevant modell för att studera rollen av Wnt/ β -katenin- och KRAS-signaler vid kolorektalcancer. Viktigt att notera är att SW480 härstammar från samma patient som SW620 men representerar primärtumören, vilket möjliggör jämförande studier av biologin hos primär respektive metastaserad kolorektalcancer.

Den stabila luciferasintegrationen i SW480-Luc möjliggör känslig, kvantitativ bioluminescensavbildning (BLI) av tumörbördan i subkutana och ortotopiska xenotransplantatmodeller med immunförsvarssvaga värdar. Det utsända luminescenssignalen korrelerar med antalet livsdugliga tumörceller, vilket möjliggör icke-invasiv longitudinell övervakning av tumörens inplantering, tillväxtkinetik och terapeutiskt svar. SW480-Luc används i stor utsträckning för in vivo-utvärdering av KRAS-riktade läkemedel, Wnt-signalvägshämmare och kemoterapibehandlingar vid kolorektalcancer, samt för jämförande studier med den matchande metastaserande SW620-linjen.

SW480-Luc behåller de etablerade molekylära egenskaperna hos den ursprungliga SW480-linjen, inklusive KRAS-, TP53- och APC-mutationer. Luciferasmodifieringen förbättrar avsevärt den experimentella genomströmningen och känsligheten för farmakodynamiska studier in vivo. Forskare bör verifiera luciferasaktiviteten, mutationsprofilen och tillväxtkinetiken under sina specifika experimentella förhållanden innan storskalig preklinisk användning.

Organism Människan

Tissue Kolon

Disease Adenocarcinom i tjocktarmen

Egenskaper

Age 51 år

Gender Man

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Epitelliknande

Growth properties Följsam

SW480-Luc | 305698

Lagstadgade uppgifter

Citation	SW480-Luc (Cytion-katalognummer 305698)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C8Y1
GMO Status	GMO-S1: Denna cellinje innehåller en stabilt integrerad reporter-kassett med eldfluga-luciferas (Luc2, kodonoptimerad) som införts via replikationsinkompetent lentiviral transduktion. Den resulterande polyklonala cellpopulationen odlades under puromycinselektion (1–5 µg/mL). S1-säkerhetsklass krävs. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt i andra länder.

Biomolekylära data

Receptors expressed	Epidermal tillväxtfaktor (EGF), keratin (immunoperoxidasfärgning). Matrilysin, ett metalloprotein som är associerat med tumörinvasivitet, uttrycks inte.
Protein expression	P53-protein; Luc2 (eldfluga, kodonoptimerad)
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, blodgrupp A, Rh+. Luc2 (eldfluga, kodonoptimerad)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1
Tumorigenic	Ja, i nakna möss
Viruses	Omvänt transkriptas negativt
Virus susceptibility	Humant immunbristvirus (HIV, LAV)
Products	Carcinoembryonalt antigen (CEA) 0,7 ng/106 celler/10 dagar, keratin, TGF-β. Det har rapporterats att cellerna producerar GM-CSF.
Mutational profile	Mutation: p.Gln1338Ter, homozygot; Mutation: p.Gly12Val, homozygot; Mutation: p.Arg273His, heterozygot; Mutation: p.Pro309Ser, heterozygot

Hantering

SW480-Luc | 305698

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilt glutamin, w: 1,0 mM natriumpyruvat, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820600a)
-----------------------	---

Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
--------------------	--------------------------------

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

Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
---------------------	---

Split ratio	1 till 3
--------------------	----------

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

Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka
----------------------	---------------------------

Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining.
----------------------	--

SW480-Luc | 305698

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 200 x g i 5 minuter och kassera försiktigt supernatanten som innehåller frysmedium.
7. Följ den procedur som beskrivs under Post-Thaw Recovery

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekyllär analys