

SW480-celler | 300302

Allmän information

Description	Cellinjen SW480 härstammar från ett kirurgiskt prov från en primärtumör av ett måttligt differentierat adenokarcinom i tjocktarmen.
Organism	Människan
Tissue	Kolon
Disease	Adenokarcinom, grad IV, Dukes typ B.
Synonyms	SW480, SW 480, SW480E

Egenskaper

Age	50 år
Gender	Man
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitelliknande
Growth properties	Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation	SW-480 (Cytion katalognummer 300302)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0546

Biomolekylära data

SW480-celler | 300302

Receptors expressed	Epidermal tillväxtfaktor (EGF), keratin (immunoperoxidasfärgning). Matrilysin, ett metalloprotein som är associerat med tumörinvasivitet, uttrycks inte.
Protein expression	Cellerna uttrycker förhöjda nivåer av p53-protein.
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, blodgrupp A, Rh+. Linjen är negativ för CSAP (CSAP-) och kolonantigen 3
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	SW-480-celler bär på en homozygot Kras-mutation i kodon 12: GGT(Wt Gly) >GTT(Val). Det finns en G->A-mutation i kodon 273 i p53-genen som resulterar i en Arg->His-substitution och en C->T-mutation i kodon 309 som resulterar i en Pro->Ser-substitution.

Hantering

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
Doubling time	20 till 25 timmar
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.

SW480-celler | 300302

Split ratio Ett förhållande på 1:2 till 1:8 rekommenderas

Seeding density 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 1 till 2 gånger per vecka

Post-Thaw Recovery Efter upptining, plattlägg cellerna med 5×10^4 celler/cm² och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.

Freeze medium Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrys 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 flödesbänk 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 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturbelägg; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

SW480-celler | 300302

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, befuktad atmosfär.

Flask Coating Ingen

Freezing Procedure 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.

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 molekylär analys

Sterility Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

STR-profil

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

SW480-celler | 300302

HLA-alleler

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