

SW480-Luc | 305698

Všeobecné informácie

Description

SW480-Luc je bioluminiscenčný derivát ľudskej bunkovej línie SW480 adenokarcinómu hrubého čreva, geneticky upravený tak, aby stabilne exprimoval reportérový gén luciferázy svätojánskej mušky. Pôvodná bunková línia SW480 bola izolovaná z primárneho adenokarcinómu hrubého čreva 51-ročného pacienta kaukazského pôvodu a je široko používaná ako model primárneho kolorektálneho karcinómu. Bunky SW480 vykazujú epiteliálnu morfológiu a obsahujú kľúčové onkogénne mutácie, vrátane KRAS G12V, TP53 R273H a P309S, ako aj skrátenie génu APC, čo z tejto línie robí relevantný model na štúdium úlohy Wnt/ β -katenínovej a KRAS signálnej dráhy pri kolorektálnom karcinóme. Dôležité je, že línie SW480 pochádza od toho istého pacienta ako SW620, avšak reprezentuje primárny nádor, čo umožňuje komparatívne štúdie biológie primárneho a metastatického kolorektálneho karcinómu.

Stabilná integrácia luciferázy v línii SW480-Luc umožňuje citlivé, kvantitatívne bioluminiscenčné zobrazovanie (BLI) nádorovej záťaže v subkutánných a ortotopických xenotransplantačných modeloch s použitím imunokompromitovaných hostiteľov. Vyžarovaný luminiscenčný signál koreluje s počtom životaschopných nádorových buniek, čo umožňuje neinvazívne longitudinálne sledovanie prihojenia nádoru, kinetiky rastu a terapeutickú odpoveď. SW480-Luc sa široko používa na in vivo hodnotenie látok zameraných na KRAS, inhibítory Wnt dráhy a chemoterapeutických režimov pri kolorektálnom karcinóme, ako aj na komparatívne štúdie s príslušnou metastatickou líniou SW620.

SW480-Luc si zachováva zavedené molekulárne charakteristiky rodičovskej línie SW480, vrátane mutácií génov KRAS, TP53 a APC. Modifikácia luciferázou podstatne zvyšuje experimentálnu priepustnosť a citlivosť pre farmakodynamické štúdie in vivo. Výskumníci by mali pred rozsiahlym predklinickým použitím overiť aktivitu luciferázy, mutačný profil a kinetiku rastu za svojich špecifických experimentálnych podmienok.

Organism

Ľudské

Tissue

Colon

Disease

Adenokarcinóm hrubého čreva

Charakteristika

Age

51 rokov

Gender

Muži

Ethnicity

Kaukazský

Morphology

Epitelu podobné

Growth properties

Adherent

SW480-Luc | 305698

Regulačné údaje

Citation	SW480-Luc (katalógové číslo Cytion 305698)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C8Y1
GMO Status	GMO-S1: Táto bunková línia obsahuje stabilne integrovanú reportérovú kazetu s luciferázou svätého Jánskej mušky (Luc2, s optimalizovanými kodónmi), ktorá bola zavedená prostredníctvom lentivírusovej transdukcie bez schopnosti replikácie. Výsledná polyklonálna bunková populácia bola udržiavaná pod selekciou puromycínom (1–5 µg/ml). Je vyžadované bezpečnostné opatrenie triedy S1. Táto klasifikácia platí iba v Nemecku a v iných krajinách sa môže líšiť.

Biomolekulárne údaje

Receptors expressed	Epidermálny rastový faktor (EGF), keratín (imunoperoxidázové farbenie). Matrilýzín, metaloproteináza spojená s invazívnosťou nádoru, nie je exprimovaný.
Protein expression	Proteín P53; Luc2 (svetluška, s optimalizovanými kodónmi)
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, krvná skupina A, Rh+. Luc2 (svetluška, s optimalizovanými kodónmi)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1
Tumorigenic	Áno, na nahých myšiach
Viruses	Reverzná transkriptáza negatívna
Virus susceptibility	Vírus ľudskej imunitnej nedostatočnosti (HIV, LAV)
Products	Karcinoembryonálny antigén (CEA) 0,7 ng/106 buniek/10 dní, keratín, TGF-β. Bolo hlásené, že bunky produkujú GM-CSF.
Mutational profile	Mutácia: p.Gln1338Ter, homozygot; mutácia: p.Gly12Val, homozygot; mutácia: p.Arg273His, heterozygot; mutácia: p.Pro309Ser, heterozygot

SW480-Luc | 305698

Spracovanie

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilný glutamín, w: 1,0 mM pyruvát sodný, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytion číslo výrobku 820600a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Split ratio	1 až 3
Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
Freeze medium	Ako médium na kryokonzerváciu používame kompletné rastové médium + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení.

SW480-Luc | 305698

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 200 x g počas 5 minút, supernatant obsahujúci zmrazovacie médium opatrne zlikvidujte.
7. Postupujte podľa postupu opísaného v časti Obnova po rozmrazení

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza