

SW480-Luc | 305698

Splošne informacije

Description

SW480-Luc je bioluminiscenčni derivat človeške celične linije SW480, ki izvira iz adenokarcinoma debelega črevesa, in je bil genetsko spremenjen tako, da stabilno izraža reporterni gen luciferaze svetlečega hrošča. Izvorna celična linija SW480 je bila vzpostavljena iz primarnega adenokarcinoma debelega črevesa 51-letnega belega moškega pacienta in se široko uporablja kot model primarnega kolorektalnega raka. Celice SW480 imajo epitelijsko podobno morfologijo in vsebujejo ključne onkogene mutacije, vključno z KRAS G12V, TP53 R273H in P309S ter skrajšanjem gena APC, zaradi česar je ta linija ustrezen model za preučevanje vloge signalnih poti Wnt/ β -katenin in KRAS pri kolorektalnem raku. Pomembno je, da je linija SW480 izvirala iz istega bolnika kot linija SW620, vendar predstavlja primarni tumor, kar omogoča primerjalne študije biologije primarnega in metastatskega kolorektalnega raka.

Stabilna integracija luciferaze v liniji SW480-Luc omogoča občutljivo, kvantitativno bioluminiscenčno slikanje (BLI) tumorske obremenitve v podkožnih in ortotopnih modelih ksenotransplantatov z uporabo imunsko oslavljenih gostiteljev. Izžarevan luminescenčni signal je v korelaciji s številom živih tumorskih celic, kar omogoča neinvazivno longitudinalno spremljanje prijema tumorja, kinetične rasti in terapevtskega odziva. SW480-Luc se široko uporablja za in vivo ocenjevanje zdravil, usmerjenih v KRAS, zaviralcev Wnt-signalne poti in kemoterapevtskih režimov pri kolorektalnem raku, pa tudi za primerjalne študije z ustrezno metastazno linijo SW620.

SW480-Luc ohranja uveljavljene molekularne značilnosti izvorne linije SW480, vključno z mutacijami genov KRAS, TP53 in APC. Modifikacija z luciferazo bistveno poveča eksperimentalno zmogljivost in občutljivost za farmakodinamične študije in vivo. Raziskovalci morajo pred obsežno predklinično uporabo preveriti aktivnost luciferaze, profil mutacij in kinetično rast v svojih specifičnih eksperimentalnih pogojih.

Organism

Človek

Tissue

Debelo črevo

Disease

Adenokarcinom debelega črevesa

Značilnosti

Age

51 let

Gender

Moški

Ethnicity

Kavkaški

Morphology

Epitelijam podobni

Growth properties

Pripadajoče

SW480-Luc | 305698

Regulativni podatki

Citation	SW480-Luc (kataloška številka Cytion 305698)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C8Y1
GMO Status	GMO-S1: Ta celična linija vsebuje stabilno vgrajeno poročevalsko kaseto luciferaze svetlečega črviča (Luc2, kodonsko optimizirano), ki je bila vnesena z replikacijsko nesposobno lentiviralno transdukcijo. Nastala poliklonalna celična populacija je bila vzdrževana pod selekcijo s puomicinom (1–5 µg/mL). Zahteva se varnostni razred S1. Ta klasifikacija velja le v Nemčiji in se drugod lahko razlikuje.

Biomolekularni podatki

Receptors expressed	Epidermalni rastni faktor (EGF), keratin (imunoperoksidazno barvanje). Matrilizin, metaloproteinaza, povezana z invazivnostjo tumorjev, ni izražen.
Protein expression	Protein P53; Luc2 (svetlobna mušica, kodonsko optimiziran)
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, krvna skupina A, Rh+. Luc2 (svetlobna mušica, kodonsko optimizirano)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1
Tumorigenic	Da, na golih miših
Viruses	Reverzna transkriptaza negativna
Virus susceptibility	Virus človeške imunske pomanjkljivosti (HIV, LAV)
Products	Karcinoembrionalni antigen (CEA) 0,7 ng/106 celic/10 dni, keratin, TGF-β. Celice naj bi proizvajale GM-CSF.
Mutational profile	Mutacija: p.Gln1338Ter, homozigotna; mutacija: p.Gly12Val, homozigotna; mutacija: p.Arg273His, heterozigotna; mutacija: p.Pro309Ser, heterozigotna

Ravnanje s spletno stranjo

SW480-Luc | 305698

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabilnega glutamina, w: 1,0 mM natrijevega piruvata, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (številka izdelka Cytion 820600a)
-----------------------	--

Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
--------------------	------------------------------

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

Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
---------------------	--

Split ratio	1 do 3
--------------------	--------

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

Fluid renewal	2 do 3-krat na teden
----------------------	----------------------

Freeze medium	Kot gojišče za krioprezervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi.
----------------------	---

SW480-Luc | 305698

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $200 \times g$ 5 minut, supernatant, ki vsebuje gojišče za zamrzovanje, previdno zavržite.
7. Izvedite postopek, opisan v poglavju Obnova po odmrzovanju

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza