

SW480 celice | 300302

Splošne informacije

Description	Celična linija SW480 izvira iz kirurškega vzorca primarnega tumorja zmerno diferenciranega adenokarcinoma debelega črevesa.
Organism	Človek
Tissue	Debelo črevo
Disease	Adenokarcinom, razred IV, Dukesov tip B.
Synonyms	SW480, SW 480, SW480E

Značilnosti

Age	50 let
Gender	Moški
Ethnicity	Kavkaški
Morphology	Epitelijam podobni
Growth properties	Pripadajoče

Regulativni podatki

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

Biomolekularni podatki

SW480 celice | 300302

Receptors expressed	Epidermalni rastni faktor (EGF), keratin (imunoperoxidazno barvanje). Matrilizin, metaloproteinaza, povezana z invazivnostjo tumorjev, ni izražen.
Protein expression	Celice izražajo povišano raven proteina p53.
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, krvna skupina A, Rh+. Linija je negativna na CSAp (CSAp-) in antigen debelega črevesa 3
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	Celice SW-480 imajo homozigotno mutacijo Krasa v kodonu 12: GGT(Wt Gly) >GTT(Val). V kodonu 273 gena p53 je mutacija G->A, ki povzroči zamenjavo Arg->His, in mutacija C->T v kodonu 309, ki povzroči zamenjavo Pro->Ser.

Ravnanje s spletno stranjo

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
Doubling time	20 do 25 ur
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.

SW480 celice | 300302

Seeding density 1×10^4 celic/cm²

Fluid renewal 1 do 2-krat na teden

Post-Thaw Recovery Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5×10^4 cel^{ic}/cm² in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

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 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upošteвайте uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, vlažno ozračje.

SW480 celice | 300302

Flask Coating Nič**Freezing Procedure**

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.

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**Sterility**

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli HLA**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