

SW480-Luc | 305698

Genel bilgi

Description

SW480-Luc, insan SW480 kolon adenokarsinom hücre hattının biyoluminesan bir türevidir ve ateşböceği lusiferaz raportör genini istikrarlı bir şekilde eksprese edecek şekilde tasarlanmıştır. Ana SW480 hücre hattı, 51 yaşındaki Kafkas erkek bir hastanın birincil kolon adenokarsinomundan oluşturulmuştur ve birincil kolorektal kanser modeli olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. SW480 hücreleri, epitel benzeri bir morfoloji sergiler ve KRAS G12V, TP53 R273H ve P309S ile APC kesilmesi gibi önemli onkogenik mutasyonları barındırır; bu da bu hücre hattını, kolorektal kanserde Wnt/ β -katenin ve KRAS sinyal yollarının rolünü incelemek için uygun bir model haline getirir. Önemli bir nokta olarak, SW480, SW620 ile aynı hastadan elde edilmiştir ancak primer tümörü temsil eder; bu da primer ve metastatik kolorektal kanser biyolojisinin karşılaştırmalı çalışmalarına olanak tanır.

SW480-Luc'taki stabil lusiferaz entegrasyonu, bağışıklık sistemi baskılanmış konakçılar kullanılarak subkutan ve ortotopik ksenograft modellerinde tümör yükünün hassas ve kantitatif biyoluminesans görüntülemesini (BLI) mümkün kılar. Yayılan lüminesan sinyal, canlı tümör hücresi sayısı ile korelasyon gösterir ve bu da tümörün greftlenmesi, büyüme kinetiği ve terapötik yanıtın noninvaziv uzunlamasına izlenmesini destekler. SW480-Luc, kolorektal kanserde KRAS hedefli ajanların, Wnt yolak inhibitörlerinin ve kemoterapötik rejimlerin in vivo değerlendirilmesinde ve ayrıca eşleşen metastatik SW620 suşuyla karşılaştırmalı çalışmalar için yaygın olarak kullanılmaktadır.

SW480-Luc, KRAS, TP53 ve APC mutasyonları dahil olmak üzere, ana SW480 hattının yerleşik moleküler özelliklerini korur. Lüseraz modifikasyonu, in vivo farmakodinamik çalışmalar için deneysel verimi ve duyarlılığı önemli ölçüde artırır. Araştırmacılar, geniş ölçekli prelinik kullanıma geçmeden önce, kendi özel deney koşulları altında lusiferaz aktivitesini, mutasyon profilini ve büyüme kinetiğini doğrulamalıdır.

Organism

İnsan

Tissue

Kolon

Disease

Kolon adenokarsinomu

Özellikler

Age

51 yıl

Gender

Erkek

Ethnicity

Kafkas

Morphology

Epitel benzeri

Growth properties

Yapışık

SW480-Luc | 305698

Düzenleyici Veriler

Citation	SW480-Luc (Cytion katalog numarası 305698)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C8Y1
GMO Status	GMO-S1: Bu hücre hattı, replikasyon yeteneği olmayan lentiviral transdüksiyon yoluyla eklenen, kararlı bir şekilde entegre edilmiş ateşböceği lusiferaz raportör kasetini (Luc2, kodon optimizasyonlu) içerir. Ortaya çıkan poliklonal hücre popülasyonu, puromisin seleksiyonu (1–5 µg/mL) altında muhafaza edilmiştir. S1 güvenlik sınıfı gereklidir. Bu sınıflandırma yalnızca Almanya içinde geçerlidir ve başka ülkelerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Receptors expressed	Epidermal büyüme faktörü (EGF), keratin (immünoperoksidaz boyama). Tümör invazivliği ile ilişkili bir metalloproteinaz olan matrilysin eksprese edilmez.
Protein expression	P53 proteini; Luc2 (ateşböceği, kodon optimizasyonlu)
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, A kan grubu, Rh+. Luc2 (ateşböceği, kodon optimizasyonlu)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1
Tumorigenic	Evet, çıplak farelerde
Viruses	Ters transkriptaz negatif
Virus susceptibility	İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV, LAV)
Products	Karsinoembriyonik antijen (CEA) 0,7 ng/106 hücre/10 gün, keratin, TGF-β. Hücrelerin GM-CSF ürettiği bildirilmiştir.
Mutational profile	Mutasyon: p.Gln1338Ter, Homozigot; Mutasyon: p.Gly12Val, Homozigot; Mutasyon: p.Arg273His, Heterozigot; Mutasyon: p.Pro309Ser, Heterozigot

SW480-Luc | 305698

Elleçleme

Culture Medium	Ham's F12, w: 1.0 mM stabil Glutamin, w: 1.0 mM Sodyum piruvat, w: 1.1 g/L NaHCO ₃ (Cytion makale numarası 820600a)
Supplements	Ortamı %10 FBS ile takviye edin
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.
Split ratio	1'den 3'e kadar
Seeding density	$1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$
Fluid renewal	haftada 2 ila 3 kez
Freeze medium	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı + %10 DMSO kullanıyoruz.

SW480-Luc | 305698

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir ajan içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Karışımı 200 x g'de 5 dakika santrifüjleyin, dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Çözülme Sonrası Kurtarma altında açıklanan prosedürü izleyin

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Storage
Conditions**

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite Kontrol ve Moleküler Analiz