Product sheet

SW480-Luc | 305698

Загальна інформація

Description	SW480-Luc — це біолюмінесцентний варіант клітинної лінії SW480, отриманої з аденокарциноми товстої кишки людини, модифікований для стабільної експресії репортерного гена люциферази світлячка. Базова клітинна лінія SW480 була створена з первинної аденокарциноми товстої кишки 51-річного пацієнта європейської раси і широко використовується як модель первинного колоректального раку. Клітини SW480 мають епітеліоподібну морфологію та містять ключові онкогенні мутації, зокрема KRAS G12V, TP53 R273H та P309S, а також укорочення гена APC, що робить цю лінію актуальною моделлю для вивчення ролі сигнальних шляхів Wnt/β-катеніну та KRAS у колоректальному раку. Важливо, що лінія SW480 була отримана від того самого пацієнта, що й лінія SW620, але представляє первинну пухлину, що дозволяє проводити порівняльні дослідження біології первинного та метастатичного колоректального раку. Стабільна інтеграція люциферази в SW480-Luc забезпечує чутливу кількісну біолюмінесцентну візуалізацію (BLI) пухлинного навантаження в підшкірних та ортотопічних моделях ксенотрансплантатів з використанням імунокомпрометованих реципієнтів. Випромінюваний люмінесцентний сигнал корелює з кількістю життєздатних пухлинних клітин, що забезпечує неінвазивний лонгітудінальний моніторинг приживлення пухлини, кінетики росту та терапевтичної відповіді. SW480-Luc широко використовується для in vivo оцінки препаратів, спрямованих на KRAS, інгібіторів шляху Wnt та хіміотерапевтичних схем при колоректальному раку, а також для порівняльних досліджень із відповідною метастатичною лінією SW620. SW480-Luc зберігає встановлені молекулярні характеристики батьківської лінії SW480, включаючи мутації KRAS, TP53 та APC. Модифікація люциферазою суттєво підвищує експериментальну пропускну здатність та чутливість для фармакодинамічних досліджень in vivo. До початку широкомасштабного доклінічного застосування дослідникам слід перевірити активність люциферази, мутаційний профіль та кінетику росту в конкретних умовах їхніх експериментів.
Organism	Людина
Tissue	Двоєточие
Disease	Аденокарцинома товстої кишки

Характеристики

Age	51 рік
Gender	Чоловік
Ethnicity	Кавказець
Morphology	Епітеліальноподібні

SW480-Luc | 305698

Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	SW480-Luc (номер у каталозі Cytion — 305698)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_C8Y1
GMO Status	GMO-S1: Ця клітинна лінія містить стабільно інтегровану репортерну касету люциферази світлячка (Luc2, з оптимізацією кодонів), введену шляхом реплікаційно-некомпетентної лентивірусної трансдукції. Отриману поліклональну клітинну популяцію підтримували в умовах селекції пуроміцином (1–5 мкг/мл). Необхідний рівень біобезпеки S1. Ця класифікація діє лише на території Німеччини та може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Receptors expressed	Епідермальний фактор росту (EGF), кератин (забарвлення імунопероксидазою). Матрилізин, металопротеїназа, пов'язана з інвазивністю пухлини, не експресується.
Protein expression	Білок P53; Luc2 (світлячок, з оптимізованими кодонами)
Antigen expression	HLA A2, B8, B17, група крові A, Rh+. Luc2 (світлячок, з оптимізованими кодонами)
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, 6PGD, A, PEP-D, 1, ES-D, 1
Tumorigenic	Так, у голих мишей
Viruses	Негативна зворотна транскриптаза
Virus susceptibility	Вірус імунодефіциту людини (ВІЛ, LAV)
Products	Карциноембріональний антиген (CEA) 0,7 нг/106 клітин/10 днів, кератин, TGF-β. Повідомлялося, що клітини виробляють GM-CSF.

SW480-Luc | 305698

Mutational profile	Мутація: p.Gln1338Ter, гомозиготна; мутація: p.Gly12Val, гомозиготна; мутація: p.Arg273His, гетерозиготна; мутація: p.Pro309Ser, гетерозиготна

Обробка

Culture Medium	ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Split ratio	від 1 до 3
Seeding density	Від 1 до 3 x 10^4 клітин/^{см2}
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Freeze medium	В якості середовища для кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після розморожування.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Центрифугуйте суміш при 200 x g протягом 5 хвилин, обережно відкиньте надосадову рідину, що містить заморожувальне середовище.

7. Виконайте процедуру, описану в розділі Відновлення після відтавання

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз