

Клетки SUM149PT | 300609

Обща информация

Description

Клетъчната линия SUM149PT е получена от човешки възпалителен карцином на гърдата (IBC), който представлява агресивен подтип на рака на гърдата. IBC се характеризира с бърза прогресия, ранно метастазирание и лоша прогноза. Клетките на SUM149PT се класифицират като тройно негативен рак на гърдата (TNBC), като при тях липсва експресия на естрогеновия рецептор (ER), прогестероновия рецептор (PR) и HER2 рецептора, което ги прави неотзивчиви към обичайните целеви терапии като ендокринни лечения или HER2 инхибитори. Вместо това лечението на такива ракови заболявания обикновено включва цитотоксична химиотерапия, въпреки че тези ракови заболявания често развиват резистентност с течение на времето.

Важно е да се отбележи, че клетките SUM149PT притежават мутация 2288delT BRCA1, която води до загуба на функцията BRCA1. Тази мутация представлява делеция на рамката, която води до преждевременно прекратяване на белтъка BRCA1, нарушавайки възстановяването на ДНК и насърчавайки геномната нестабилност - отличителна черта на раковите заболявания, мутирани в BRCA1. Загубата на BRCA1 допринася за повишената хромозомна нестабилност, наблюдавана при SUM149PT, при който се наблюдават множество хромозомни аберации. В допълнение към мутацията, локустът BRCA1 е загубен в SUM149PT, което допълнително утежнява въздействието върху геномната стабилност.

Изненадващо, клетките на SUM149PT показват субпопулация от CD44+/CD24-/Low стволоподобни ракови клетки, която е обогатена със свойства на ракови стволови клетки (CSC), като например повишена инвазия, туморогенеза и устойчивост на химиотерапия. Тези стволоподобни клетки се свързват и с амплификация на центрозомите и повишена активност на циклин E/Cdk2. Инхибирането на Cdk2 в SUM149PT селективно се насочва към тази субпопулация на CSC, като възстановява известна чувствителност към химиотерапия, което предполага, че комбинирани терапевтични стратегии, насочени към Cdk2 и конвенционалната химиотерапия, могат да бъдат ефективни при лечението на химиорезистентен IBC.

Organism Човек

Tissue Гърди

Disease Възпалителен карцином на гърдата

Synonyms SUM-149PT, SUM 149PT, SUM149-PT, SUM149, SUM-149, SUM 149, 149 PT, 149PT, BrCL12

Характеристики

Age 40 години

Gender Жена

Morphology Епителиален

Клетки SUM149PT | 300609

Growth properties

Придържачи се

Регулаторни данни

Citation SUM149PT (каталожен номер 300609 на Cytion)**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3422

Биомолекулярни данни

Protein expression P53 положителен

Работа с

Culture Medium Ham's F12, w: 1,0 mM стабилен глутамин, w: 1,0 mM натриев пируват, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820600a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки SUM149PT | 300609

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки SUM149PT | 300609

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Съхранението при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.