

Buňky SK-BR-3 | 300333

Obecné informace

Description

Buňky SK-BR-3 jsou lidskou buněčnou linií karcinomu prsu izolovanou z pleurálního výpotku 43leté pacientky s metastazujícím karcinomem prsu. Buňky SKBR3 byly vytvořeny na počátku 70. let 20. století a jsou známé svou nadměrnou expresí lidského receptoru pro epidermální růstový faktor 2 (HER2), receptorové tyrozinkinázy, která hraje klíčovou roli v patogenezi a progresi některých typů karcinomu prsu.

Tato buněčná linie se vyznačuje genetickými aberacemi běžnými u rakoviny prsu, včetně amplifikace genu HER2 a mutací v nádorovém supresorovém genu p53. Nadměrná exprese HER2 v buňkách SK-BR-3 z nich činí cenný model pro studium HER2-pozitivního karcinomu prsu, který se vyznačuje agresivním růstem a špatnou prognózou, a pro terapie cílené na HER2. Buňky SK-BR-3 byly důležité při studiu trastuzumabu (Herceptin), monoklonální protilátky proti HER2, která se stala základem léčby HER2 pozitivního karcinomu prsu.

Buňky SK-BR-3 vykazují robustní růst in vitro a byly použity v různých experimentálních sestavách, včetně studií buněčné signalizace, rezistence vůči lékům, apoptózy a buněčného cyklu rakoviny. Tyto buňky jsou také klíčovým zdrojem pro výrobu monoklonálních protilátek a pro výzkum imunitní odpovědi na buňky rakoviny prsu.

Lze shrnout, že buněčná linie SK-BR-3 je nepostradatelným nástrojem ve výzkumu rakoviny prsu, který nabízí hluboký vhled do biologie HER2-pozitivních nádorů a usnadňuje vývoj cílených terapií, které výrazně zlepšily vyhlídky pacientů s touto náročnou formou rakoviny.

Organism Člověk

Tissue Prsa, mléčná žláza

Disease Invazivní duktální karcinom

Metastatic site Pleurální výpotek

Synonyms SK-Br-3, Sk-Br-3, SK BR 03, SKBR-3, SKBr-3, SK-BR3, SKBr3, SkBr3, SKBR3, SKBR3

Charakteristika

Age 43 let

Gender Ženy

Ethnicity Kavkazský

Morphology Epitelu podobné

Growth properties Monovrstva, adherentní

Buňky SK-BR-3 | 300333

Regulační údaje

Citation	SK-BR-3 (katalogové číslo Cytion 300333)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0033

Biomolekulární data

Protein expression	P53 pozitivní
Antigen expression	Krevní skupina A, Rh+, HLA A11, Bw22(+/-), B40, B18
Isoenzymes	PGM3, 1, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1-2, GLO-1, 2, G6PD, B, Fenotyp Frekvence produktu: 0.0044
Tumorigenic	Ano, u nahých myší vytváří špatně diferencovaný adenokarcinom
Mutational profile	Mutace TP53
Karyotype	(P9) hypertriploidní až hypotetraploidní (+A, +B, +C, +E, +F, +G, -D) s abnormalitami včetně dicentrik, akrocentrických fragmentů, kroužků, sekundárních zúžení, velkých metacentrik nebo polycentrik a velkých submetacentrických markerů

Zpracování

Culture Medium	McCoy's 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilní glutamin, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO ₃ (číslo článku Cytion 820200a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 hodin

Buňky SK-BR-3 | 300333

Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:2 až 1:4
Seeding density	Začněte kultivaci z kryovialky při 3×10^4 buněk/cm ² . Pro pokračující subkultivace použijte 2×10^4 buněk/cm ² .
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm ² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky SK-BR-3 | 300333**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky SK-BR-3 | 300333**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12
D13S317: 11,12
D16S539: 9
D5S818: 9,12
D7S820: 9,12
TH01: 8,9
TPOX: 8,11
vWA: 17
D3S1358: 17
D21S11: 30,30.2
D18S51: 10,13
Penta E: 10,11
Penta D: 9,12
D8S1179: 11,12
FGA: 20

Alely HLA

A*: '02:01:01, '03:01:01
B*: '14:02:01, '40:01:02
C*: '03:04:01, '08:02:01
DRB1*: '07:01:01, '13:02:01
DQA1*: '01:02:01, '02:01:01
DQB1*: '02:02:01, '06:04:01
DPB1*: '03:01:01
E: '01:01, '01:03