

SK-BR-3-celler | 300333

Generel information

Description

SK-BR-3-celler er en human brystkræftcellelinje, der blev isoleret fra pleuraeffusionen fra en 43-årig kvindelig patient med metastatisk brystkræft. SKBR3-celler blev etableret i begyndelsen af 1970'erne og er kendt for deres overudtryk af den humane epidermale vækstfaktorreceptor 2 (HER2), en receptortyrosinkinase, der spiller en kritisk rolle i patogenesen og udviklingen af visse typer brystkræft.

Cellelinjen er karakteriseret ved genetiske aberrationer, der er almindelige ved brystkræft, herunder amplifikation af HER2-genet og mutationer i p53-tumorsuppressorgenet. Overekspressionen af HER2 i SK-BR-3-celler gør dem til en værdifuld model til undersøgelse af HER2-positiv brystkræft, som er kendetegnet ved aggressiv vækst og en dårlig prognose, og til HER2-målrættede terapier. SK-BR-3-celler har været afgørende i undersøgelsen af trastuzumab (Herceptin), et monoklonalt antistof mod HER2, som er blevet en hjørnesteen i behandlingen af HER2-positiv brystkræft.

SK-BR-3-celler udviser en robust in vitro-vækstrate og er blevet brugt i en række forskellige forsøgsopstillinger, herunder undersøgelser af cellesignalering, lægemiddelresistens, apoptose og kræftcellecyklus. Disse celler er også en vigtig ressource til produktion af monoklonale antistoffer og til forskning i immunresponsen på brystkræftceller.

Kort sagt er SK-BR-3-cellelinjen et uundværligt værktøj i brystkræftforskningen, der giver dyb indsigt i HER2-positiv tumorerers biologi og letter udviklingen af målrettede behandlinger, der har forbedret udsigterne for patienter med denne udfordrende form for kræft betydeligt.

Organism

Menneske

Tissue

Bryst, brystkirtel

Disease

Invasivt duktalt karcinom

Metastatic site

Pleural effusion

Synonyms

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

Karakteristika

Age

43 år

Gender

Kvinde

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Epitel-lignende

SK-BR-3-celler | 300333

Growth properties Monolag, klæbende

Regulatoriske data

Citation SK-BR-3 (Cytion katalognummer 300333)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0033

Biomolekylære data

Protein expression P53-positiv

Antigen expression Blodtype 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, Fænotypefrekvensprodukt: 0.0044

Tumorigenic Yees, i nøgenmus, danner dårligt differentieret adenokarcinom

Mutational profile TP53 mut

Karyotype (P9) hypertriploid til hypotetraploid (+A, +B, +C, +E, +F, +G, -D) med abnormiteter, herunder dicentriske, acrocentriske fragmenter, ringe, sekundære indsnævringer, store metacentriske eller polycentriske og store submetacentriske markører

Håndtering

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L Glukose, w: stabil Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820200a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

SK-BR-3-celler | 300333

Doubling time 30 timer

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Split ratio Det anbefales at bruge et forhold på 1:2 til 1:4

Seeding density Start dyrkningen fra kryorør med 3×10^4 celler/cm². Brug 2×10^4 celler/cm² til fortsatte subkulturer.

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

Post-Thaw Recovery Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

Freeze medium Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

SK-BR-3-celler | 300333

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

SK-BR-3-celler | 300333

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

STR-profil

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

HLA-alleler

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