

SK-BR-3-Luc | 305709

Γενικές πληροφορίες

Description

Το SK-BR-3-Luc είναι ένα βιοφωταυγές παράγωγο της ανθρώπινης κυτταρικής σειράς αδеноκαρκινώματος του μαστού SK-BR-3, το οποίο έχει τροποποιηθεί γενετικά ώστε να εκφράζει σταθερά ένα γονίδιο-δείκτη λουσιφεράσης πυγολαμπίδας. Η μητρική κυτταρική σειρά SK-BR-3 δημιουργήθηκε από μεταστάσεις σε πλευριτική συλλογή ενός αδеноκαρκινώματος του μαστού σε μια 43χρονη ασθενή καυκάσιας καταγωγής και χαρακτηρίζεται από ενίσχυση και υπερέκφραση του γονιδίου HER2 (ERBB2), γεγονός που την κατατάσσει ως μοντέλο HER2-θετικού καρκίνου του μαστού. Τα κύτταρα SK-BR-3 παρουσιάζουν επιθηλιοειδή ανάπτυξη μονοστρωματικής μορφής και χρησιμοποιούνται ευρέως για τη μελέτη της βιολογίας του καρκίνου του μαστού που οφείλεται στο HER2, καθώς και για την αξιολόγηση θεραπειών που στοχεύουν στο HER2, όπως το trastuzumab, το lapatinib, το pertuzumab και τα συζεύγματα αντισωμάτων-φαρμάκων, όπως το trastuzumab-deruxtecan.

Η σταθερή ενσωμάτωση της λουσιφεράσης στο SK-BR-3-Luc επιτρέπει την ευαίσθητη, ποσοτική απεικόνιση βιοφωταύγειας (BLI) του όγκου σε μοντέλα ξενομοσχεύματος σε ανοσοκατεσταλμένους ξενιστές. Το εκπεμπόμενο φωταυγές σήμα συσχετίζεται με τον αριθμό των βιώσιμων καρκινικών κυττάρων, υποστηρίζοντας τη μη επεμβατική διαχρονική παρακολούθηση της εμφύτευσης του όγκου, της κινητικής ανάπτυξης και της θεραπευτικής απόκρισης. Το SK-BR-3-Luc είναι ιδιαίτερα πολύτιμο για την προκλινική αξιολόγηση παραγόντων κατά του HER2, των ADC, των δισειδικών αντισωμάτων και των στρατηγικών συνδυασμού που στοχεύουν στον άξονα σηματοδότησης του HER2 στον καρκίνο του μαστού, καθώς και για τον έλεγχο φαρμάκων υψηλής απόδοσης και τις φαρμακοδυναμικές μελέτες in vivo.

Το SK-BR-3-Luc διατηρεί τον καθιερωμένο μοριακό φαινότυπο ενίσχυσης του HER2 και τα χαρακτηριστικά ανάπτυξης της γονικής σειράς SK-BR-3. Ο αναφορέας λουσιφεράσης ενισχύει σημαντικά την πειραματική απόδοση και την ευαισθησία για μελέτες απεικόνισης in vivo. Οι ερευνητές θα πρέπει να επιβεβαιώσουν τη δραστηριότητα της λουσιφεράσης, την κατάσταση ενίσχυσης του HER2 και την κινητική ανάπτυξης υπό τις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες τους πριν από τη χρήση σε μεγάλη κλίμακα σε προκλινικές εφαρμογές.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Μεταστατικό

Disease

Αδеноκαρκίνωμα του μαστού

Metastatic site

Υπεζωκοτική συλλογή

Χαρακτηριστικά

Age

43 χρόνια

Gender

Γυναίκα

Ethnicity

Καυκάσιος

SK-BR-3-Luc | 305709

Morphology Επιθηλιοειδής**Growth properties** Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation SK-BR-3-Luc (αριθμός καταλόγου Cytion 305709)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4Y11

GMO Status GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά περιέχει μια σταθερά ενσωματωμένη κασέτα αναφοράς λουσιφεράσης πυγολαμπίδας (Luc2, με βελτιστοποιημένα κωδόνια), η οποία εισήχθη μέσω λεντιϊκής μεταγωγής χωρίς ικανότητα αναπαραγωγής. Ο προκύπτων πολυκλωνικός κυτταρικός πληθυσμός διατηρήθηκε υπό επιλογή με πουρομυκίνη (1–5 µg/mL). Απαιτείται περιορισμός S1. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Antigen expression Ομάδα αίματος A, Rh+, HLA A11, Bw22(+/-), B40, B18, Luc2 (firefly, βελτιστοποιημένο ως προς τα κωδόνια)

Isoenzymes PGM3, 1, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1-2, GLO-1, 2, G6PD, B, Προϊόν συχνότητας φαινοτύπου: 0.0044

Tumorigenic Ναι, σε γυμνά ποντίκια, σχηματίζει φτωχά διαφοροποιημένο αδενοκαρκίνωμα

Mutational profile Μετάλλαξη: p.Arg175His, ομόζυγη

Χειρισμός

Culture Medium McCoys**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

SK-BR-3-Luc | 305709

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Split ratio 1 έως 3

Seeding density 1 έως 3×10^4 κύτταρα/cm²

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρωσης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρήστε το μείγμα στα 200 x g για 5 λεπτά, απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το μέσο κατάψυξης.
7. Ακολουθήστε τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα Ανάκτηση μετά την απόψυξη

SK-BR-3-Luc | 305709

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση