Product sheet

Κύτταρα SUM149PT | 300609

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά SUM149PT προέρχεται από ανθρώπινο φλεγμονώδες καρκίνωμα του μαστού (IBC), το οποίο αντιπροσωπεύει έναν επιθετικό υποτύπο καρκίνου του μαστού. Το IBC χαρακτηρίζεται από ταχεία εξέλιξη, πρώιμη μετάσταση και κακή πρόγνωση. Τα κύτταρα SUM149PT ταξινομούνται ως τριπλά αρνητικός καρκίνος του μαστού (TNBC), καθώς στερούνται έκφρασης του υποδοχέα οιστρογόνων (ER), του υποδοχέα προγεστερόνης (PR) και του υποδοχέα HER2, γεγονός που τα καθιστά μη ανταποκρινόμενα στις συνήθεις στοχευμένες θεραπείες, όπως οι ενδοκρινικές θεραπείες ή οι αναστολείς του HER2. Αντ' αυτού, η θεραπεία για τέτοιους καρκίνους περιλαμβάνει συνήθως κυτταροτοξική χημειοθεραπεία, αν και αυτοί οι καρκίνοι συχνά αναπτύσσουν αντίσταση με την πάροδο του χρόνου. Είναι σημαντικό ότι τα κύτταρα SUM149PT διαθέτουν μετάλλαξη 2288delT BRCA1, που οδηγεί σε απώλεια της λειτουργίας του BRCA1. Αυτή η μετάλλαξη είναι μια διαγραφή με μετατόπιση πλαισίου που οδηγεί σε πρόωρο τερματισμό της πρωτεΐνης BRCA1, επηρεάζοντας την επιδιόρθωση του DNA και προωθώντας τη γονιδιωματική αστάθεια, χαρακτηριστικό γνώρισμα των καρκίνων με μετάλλαξη BRCA1. Η απώλεια του BRCA1 συμβάλλει στην αυξημένη χρωμοσωμική αστάθεια που παρατηρείται στο SUM149PT, το οποίο εμφανίζει πολυάριθμες χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Εκτός από τη μετάλλαξη, ο τόπος BRCA1 έχει χαθεί στον SUM149PT, επιδεινώνοντας περαιτέρω τον αντίκτυπο στη γονιδιωματική σταθερότητα. Παραδόξως, τα κύτταρα SUM149PT εμφανίζουν έναν υποπληθυσμό καρκινικών κυττάρων που μοιάζουν με βλαστικά κύτταρα CD44+/CD24-/Low, ο οποίος είναι εμπλουτισμένος σε ιδιότητες καρκινικών βλαστικών κυττάρων (CSC), όπως η αυξημένη διείσδυση, η καρκινογένεση και η αντίσταση στη χημειοθεραπεία. Αυτά τα stem-like κύτταρα σχετίζονται επίσης με ενίσχυση του κεντροσώματος και αυξημένη δραστηριότητα της κυκλίνης E/Cdk2. Η αναστολή της Cdk2 στο SUM149PT στοχεύει επιλεκτικά αυτόν τον υποπληθυσμό CSC, αποκαθιστώντας κάποια ευαισθησία στη χημειοθεραπεία, γεγονός που υποδηλώνει ότι οι συνδυασμένες θεραπευτικές στρατηγικές που στοχεύουν την Cdk2 και τη συμβατική χημειοθεραπεία μπορεί να είναι αποτελεσματικές στη θεραπεία της χημειοανθεκτικής IBC.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Στήθος
Disease	Φλεγμονώδες καρκίνωμα του μαστού
Synonyms	SUM-149PT, SUM 149PT, SUM149-PT, SUM149, SUM-149, SUM 149, SUM 149, 149 PT, 149PT, BrCL12

Χαρακτηριστικά

Age	40 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Morphology	Επιθηλιακό

Κύτταρα SUM149PT | 300609

Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	SUM149PT (αριθμός καταλόγου Cytion 300609)
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3422

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	P53 θετικό

Χειρισμός

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM σταθερή γλουταμίνη, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,1 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820600a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
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.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα SUM149PT | 300609

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 φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

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.

Κύτταρα SUM149PT | 300609

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.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.