

Κύτταρα SK-BR-3 | 300333

Γενικές πληροφορίες

Description

Τα κύτταρα SK-BR-3 είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά καρκίνου του μαστού που απομονώθηκε από την υπεζωκοτική συλλογή μιας 43χρονης ασθενούς με μεταστατικό καρκίνο του μαστού. Τα κύτταρα SKBR3 δημιουργήθηκαν στις αρχές της δεκαετίας του 1970 και είναι γνωστά για την υπερέκφραση του υποδοχέα 2 του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (HER2), μιας κινάσης του υποδοχέα τυροσίνης που διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην παθογένεια και την εξέλιξη ορισμένων τύπων καρκίνου του μαστού.

Η κυτταρική σειρά χαρακτηρίζεται από γενετικές ανωμαλίες που είναι κοινές στον καρκίνο του μαστού, συμπεριλαμβανομένης της ενίσχυσης του γονιδίου HER2 και μεταλλάξεων στο ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53. Η υπερέκφραση του HER2 στα κύτταρα SK-BR-3 τα καθιστά πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη του HER2-θετικού καρκίνου του μαστού, ο οποίος χαρακτηρίζεται από επιθετική ανάπτυξη και κακή πρόγνωση, καθώς και για θεραπείες που στοχεύουν στο HER2. Τα κύτταρα SK-BR-3 έχουν παίξει καθοριστικό ρόλο στη μελέτη της τραστοζουμάμπης (Herceptin), ενός μονοκλωνικού αντισώματος κατά του HER2 που έχει καταστεί ακρογωνιαίος λίθος στη θεραπεία του HER2-θετικού καρκίνου του μαστού.

Τα κύτταρα SK-BR-3 παρουσιάζουν ισχυρό ρυθμό ανάπτυξης in vitro και έχουν χρησιμοποιηθεί σε ποικίλες πειραματικές διατάξεις, συμπεριλαμβανομένων μελετών σχετικά με την κυτταρική σηματοδότηση, την αντίσταση στα φάρμακα, την απόπτωση και τον καρκινικό κυτταρικό κύκλο. Τα κύτταρα αυτά αποτελούν επίσης βασική πηγή για την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων και για την έρευνα της ανοσολογικής απόκρισης στα κύτταρα καρκίνου του μαστού.

Συνοπτικά, η κυτταρική σειρά SK-BR-3 είναι ένα απαραίτητο εργαλείο στην έρευνα για τον καρκίνο του μαστού, προσφέροντας βαθιά γνώση της βιολογίας των HER2-θετικών όγκων και διευκολύνοντας την ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών που έχουν βελτιώσει σημαντικά τις προοπτικές των ασθενών με αυτή τη δύσκολη μορφή καρκίνου.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Μαστός, μαστικός αδένας

Disease Διηθητικό καρκίνωμα του πόρου

Metastatic site Υπεζωκοτική συλλογή

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

Χαρακτηριστικά

Age 43 χρόνια

Gender Γυναίκα

Ethnicity Καυκάσιος

Κύτταρα SK-BR-3 | 300333

Morphology Επιθηλιοειδής

Growth properties Μονοστρωματική, προσκολλημένη

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation SK-BR-3 (αριθμός καταλόγου Cytion 300333)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0033

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression P53 θετικό

Antigen expression Ομάδα αίματος 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, Προϊόν συχνότητας φαινοτύπου: 0.0044

Tumorigenic Ναι, σε γυμνά ποντίκια, σχηματίζει φτωχά διαφοροποιημένο αδενοκαρκίνωμα

Mutational profile TP53 mut

Karyotype (P9) υπερτριπλοειδής έως υποτετραπλοειδής (+A, +B, +C, +E, +F, +G, -D) με ανωμαλίες που περιλαμβάνουν δικεντρικά, ακροκεντρικά θραύσματα, δακτυλίους, δευτερογενείς στενώσεις, μεγάλα μετακεντρικά ή πολυκεντρικά και μεγάλο υπομετακεντρικό δείκτη

Χειρισμός

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L γλυκόζη, w: σταθερή γλουταμίνη, w: 2,0 mM πυρροβικό νάτριο, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820200a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Κύτταρα SK-BR-3 | 300333

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 30 ώρες

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 Συνιστάται αναλογία 1:2 έως 1:4

Seeding density Ξεκινήστε την καλλιέργεια από κρουοφιαλίδα με 3×10^4 κύτταρα/cm². Χρησιμοποιήστε 2×10^4 κύτταρα/cm² για συνεχιζόμενες υποκαλλιέργειες.

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Post-Thaw Recovery Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5×10^4 κύτταρα/cm² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.

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 SK-BR-3 | 300333**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 κρουφιαλίδιο 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 κρουφιαλίδιο 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% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες 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 SK-BR-3 | 300333

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.

Προφίλ 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

HLA αλληλόμορφα

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