

SUM149PT rakud | 300609

Üldine teave

Description

SUM149PT rakuliin on saadud inimese põletikulisest rinnavähist (IBC), mis kujutab endast rinnavähi agressiivset alatüüpi. IBC-d iseloomustab kiire progresseerumine, varajane metastaaside teke ja halb prognoos. SUM149PT rakud liigitatakse kolmiknegatiivse rinnavähi (TNBC) hulka, millel puudub östrogeeni retseptori (ER), progesterooni retseptori (PR) ja HER2 retseptori ekspressioon, mistõttu nad ei reageeri tavalistele sihtotstarbelistele ravimeetoditele, nagu endokriinsed ravimid või HER2-inhibiitorid. Selle asemel hõlmab selliste vähivormide ravi tavaliselt tsütotoksilist kemoterapiat, kuigi nende vähivormide puhul tekib aja jooksul sageli resistentsus.

Oluline on see, et SUM149PT rakkudel on 2288delT BRCA1 mutatsioon, mis põhjustab BRCA1 funktsiooni kadumist. See mutatsioon on raamnihke deleetsioon, mille tulemuseks on BRCA1 valgu enneaegne lõpetamine, mis kahjustab DNA parandamist ja soodustab genoomset ebastabiilsust, mis on BRCA1-mutatsiooniga vähkkasvajate tunnusjooneks. BRCA1 kaotus aitab kaasa SUM149PT-l täheldatud suurenenud kromosoomilise ebastabiilsuse tekkele, mis näitab arvukaid kromosomiaberratsioone. Lisaks mutatsioonile on SUM149PT-s kadunud ka BRCA1-lookus, mis suurendab veelgi mõju genoomi stabiilsusele.

Üllataval kombel on SUM149PT rakkudel CD44+/CD24-/Low stem-like vähirakkude alampopulatsioon, mis on rikastatud vähi tüvirakkude (CSC) omadustega, nagu suurenenud invasiivsus, tuumorigeneesi ja resistentsus keemiaravile. Need tüvelised rakud on seotud ka tsentrosoomi amplifikatsiooni ja kõrgendatud tsükliin E/Cdk2 aktiivsusega. Cdk2 inhibeerimine SUM149PT-s on selektiivselt suunatud sellele CSC-alampopulatsioonile, taastades teatava tundlikkuse keemiaravi suhtes, mis viitab sellele, et kombineeritud ravistrateegiad, mis on suunatud Cdk2-le ja tavapärasele keemiaravile, võivad olla tõhusad keemiaresistentse IBC ravimisel.

Organism

Inimene

Tissue

Rind

Disease

Rinna põletikuline kartsinoom

Synonyms

SUM-149PT, SUM 149PT, SUM149-PT, SUM149, SUM-149, SUM-149, SUM 149, 149 PT, 149PT, BrCL12

Omadused

Age

40 aastat

Gender

Naised

Morphology

Epiteel

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

SUM149PT rakud | 300609

Citation SUM149PT (Cytioni katalooginumber 300609)

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3422

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression P53 positiivne

Töötlemine

Culture Medium Ham's F12, w: 1,0 mM stabiilne glutamiin, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820600a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

SUM149PT rakud | 300609

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

SUM149PT rakud | 300609

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

STR-profiil

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12
D13S317: 12
D16S539: 11
D5S818: 11
D7S820: 11
TH01: 9. märts
TPOX: 9
vWA: 16,18
D3S1358: 17
D21S11: 28,31,2
D18S51: 14,15
Penta E: 11
Penta D: 8,9
D8S1179: 14,16
FGA: 29
D6S1043: 18
D2S1338: 20
D12S391: 15,18
D19S433: 12,14