

SK-BR-3 rakud | 300333

Üldine teave

Description

SK-BR-3 rakud on inimese rinnavähi rakuliin, mis on isoleeritud 43-aastase metastaatilise rinnavähiga naissoost patsiendi pleuraefusioonist. SKBR3 rakud loodi 1970ndate alguses ja on tuntud inimese epidermise kasvufaktori retseptori 2 (HER2) üleekspressiooni poolest, mis on retseptori türosiini kinaas, millel on oluline roll teatud tüüpi rinnavähi patogeneesis ja progresseerumises.

Rakuliinile on iseloomulikud rinnavähi puhul levinud geneetilised aberratsioonid, sealhulgas HER2 geeni amplifikatsioon ja mutatsioonid p53 kasvajasupressorgeenis. HER2 üleekspressioon SK-BR-3 rakkudes teeb neist väärtusliku mudeli HER2-positiivse rinnavähi uurimiseks, mida iseloomustab agressiivne kasv ja halb prognoos, ning HER2-le suunatud ravimeetodite jaoks. SK-BR-3 rakud on olnud olulised HER2-vastase monoklonaalse antikeha trastuzumabi (Herceptin) uurimisel, millest on saanud HER2-positiivse rinnavähi ravi nurgakivi.

SK-BR-3 rakkudel on tugev in vitro kasvutempo ja neid on kasutatud mitmesugustes katsesüsteemides, sealhulgas rakusignaalide, ravimiresistentsuse, apoptoosi ja vähirakkude tsükli uuringutes. Need rakud on ka peamine ressurss monoklonaalsete antikehade tootmiseks ja rinnavähirakkude immuunvastuse uurimiseks.

Kokkuvõttes on SK-BR-3 rakuliin asendamatu vahend rinnavähi uurimisel, pakkudes põhjalikke teadmisi HER2-positiivsete kasvajatate bioloogiast ja hõlbustades sihtotstarbeliste ravimeetodite väljatöötamist, mis on oluliselt parandanud selle raske vähivormiga patsientide väljavaateid.

Organism Inimene

Tissue Rind, rinnanäärme

Disease Invasiivne ductus kartsinoom

Metastatic site Pleuraefusioon

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

Omadused

Age 43 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Monokihiline, kleepuv

SK-BR-3 rakud | 300333

Regulatiivsed andmed

Citation	SK-BR-3 (Cytioni katalooginumber 300333)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0033

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression	P53 positiivne
Antigen expression	Veregrupp 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, fenotüübi sagedustood: 0.0044
Tumorigenic	Jah, moodustab alasti hiirtel halvasti diferentseerunud adenokartsinoomi
Mutational profile	TP53 mut
Karyotype	(P9) hüpertriploidne kuni hüpotetraploidne (+A, +B, +C, +E, +F, +G, -D), millel on kõrvalekaldeid, sealhulgas ditsentrilised, akrotsentrilised fragmendid, rõngad, sekundaarsed ahenemised, suured metatsentrilised või polütsentrilised ja suured submetatsentrilised markerid

Töötlemine

Culture Medium	McCoy's 5a, w: 3,0 g/L glükoos, w: stabiilne glutamiin, w: 2,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820200a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 tundi

SK-BR-3 rakud | 300333

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt 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.

Split ratio Soovitav on suhe 1:2 kuni 1:4

Seeding density Alusta kultuuri kasvatamist krüoviaalist 3×10^4 rakku/cm². Kasuta 2×10^4 rakku/cm² jätkuvateks subkultuurideks.

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

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.

SK-BR-3 rakud | 300333

**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.

SK-BR-3 rakud | 300333

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: 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 alleles

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