

SUM149PT-solut | 300609

Yleisiä tietoja

Description

SUM149PT-solulinja on peräisin ihmisen tulehduksellisesta rintasyövästä (IBC), joka edustaa rintasyövän aggressiivista alatyyppeä. IBC:lle on ominaista nopea eteneminen, varhainen etäpesäkkeiden muodostuminen ja huono ennuste. SUM149PT-solut luokitellaan kolmoisnegatiiviseksi rintasyöväksi (TNBC), sillä niistä puuttuu estrogeenireseptorin (ER), progesteronireseptorin (PR) ja HER2-reseptorin ilmentyminen, minkä vuoksi ne eivät reagoi tavanomaisiin kohdennettuihin hoitoihin, kuten hormonihoitoihin tai HER2-estäjiin. Sen sijaan tällaisten syöpien hoitoon kuuluu yleensä sytotoksinen kemoterapia, vaikka näille syöville kehittyy usein ajan myötä resistenssi.

Merkittävää on, että SUM149PT-soluissa on 2288delT BRCA1-mutaatio, joka johtaa BRCA1:n toiminnan menetykseen. Tämä mutaatio on frame-shift-deleetio, joka johtaa BRCA1-proteiinin ennenaikaiseen päättymiseen, mikä heikentää DNA:n korjausta ja edistää genomista epävakautta, joka on BRCA1-mutaation omaavien syöpien tunnusmerkki. BRCA1:n menetys vaikuttaa osaltaan SUM149PT:ssä havaittuun lisääntyneeseen kromosomisen epävakauteen, jossa esiintyy lukuisia kromosomipoikkeavuuksia. Mutaation lisäksi BRCA1-lokus on kadonnut SUM149PT:ssä, mikä pahentaa vaikutusta genomistabiilisuuteen entisestään.

Yllättäen SUM149PT-soluissa esiintyy CD44+/CD24-/Low stem-like -syöpäsolujen osapopulaatiota, jossa on runsaasti syöpäkantasolun (CSC) ominaisuuksia, kuten lisääntynyt invaasio, kasvainten synty ja resistenssi kemoterapiaa vastaan. Näihin kantasolujen kaltaisiin soluihin liittyy myös sentrosomin monistuminen ja kohonnut sykliini E/Cdk2-aktiivisuus. Cdk2:n estäminen SUM149PT:ssä kohdistuu valikoivasti tähän CSC-alipopulaatioon ja palauttaa jonkin verran herkkyyttä kemoterapialle, mikä viittaa siihen, että yhdistetyt terapeuttiset strategiat, jotka kohdistuvat Cdk2:een ja tavanomaiseen kemoterapiaan, saattavat olla tehokkaita kemoresistenttien IBC-solujen hoidossa.

Organism Ihminen

Tissue Rinta

Disease Rintojen tulehduksellinen karsinooma

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

Ominaisuudet

Age 40 vuotta

Gender Nainen

Morphology Epiteeli

Growth properties Tarttuva

SUM149PT-solut | 300609

Säätelytiedot

Citation	SUM149PT (Cytionin luettelonumero 300609)
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3422

Biomolekyyli tiedot

Protein expression	P53-positiivinen
--------------------	------------------

Käsittely

Culture Medium	Ham's F12, w: 1,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia, w: 1,1 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820600a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

SUM149PT-solut | 300609

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

SUM149PT-solut | 300609**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi**Sterility**

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

STR-profiili

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12
D13S317: 12
D16S539: 11
D5S818: 11
D7S820: 11
TH01: 9. maaliskuuta
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