

SK-BR-3-solut | 300333

Yleisiä tietoja

Description

SK-BR-3-solut ovat ihmisen rintasyöpäsolulinja, joka on eristetty 43-vuotiaan, metastoittavasta rintasyöpää sairastavan naispotilaan pleuraeritteestä. SKBR3-solut on perustettu 1970-luvun alussa, ja ne tunnetaan siitä, että niissä esiintyy liikaa ihmisen epidermisen kasvutekijän reseptori 2:ta (HER2), reseptori-tyrosiini-kinasaa, jolla on kriittinen rooli tiettyjen rintasyöpätyyppien patogeenisessä ja etenemisessä.

Solulinjalle on ominaista rintasyöpässä yleiset geneettiset poikkeavuudet, kuten HER2-geenin monistuminen ja p53-kasvain-suppressorigeenin mutaatiot. HER2:n yliekspressio SK-BR-3-soluissa tekee niistä arvokkaan mallin HER2-positiivisen rintasyövän tutkimiseen, jolle on ominaista aggressiivinen kasvu ja huono ennuste, sekä HER2:een kohdennettujen hoitojen tutkimiseen. SK-BR-3-solut ovat olleet keskeisessä asemassa tutkittaessa trastuzumabia (Herceptin), HER2:n vastaista monoklonaalista vasta-ainetta, josta on tullut HER2-positiivisen rintasyövän hoidon kulmakivi.

SK-BR-3-soluilla on vankka in vitro -kasvu, ja niitä on käytetty erilaisissa koeasetelmissä, kuten solusignaalintia, lääkeresistenssiä, apoptoosia ja syövän solusykliä koskevissa tutkimuksissa. Nämä solut ovat myös keskeinen resurssi monoklonaalisten vasta-aineiden tuotannossa ja rintasyöpäsolujen immuunivasteen tutkimuksessa.

Yhteenvedon voidaan todeta, että SK-BR-3-solulinja on välttämätön väline rintasyöpätutkimuksessa, sillä se tarjoaa syvällistä tietoa HER2-positiivisten kasvainten biologiasta ja helpottaa sellaisten kohdennettujen hoitojen kehittämistä, jotka ovat parantaneet merkittävästi tätä haastavaa syöpämuotoa sairastavien potilaiden näkymiä.

Organism

Ihminen

Tissue

Rinta, rintarauhanen

Disease

Invasiivinen duktaalikarsinoma

Metastatic site

Pleuraeffuusio

Synonyms

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

Ominaisuudet

Age

43 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Kaukasialainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

SK-BR-3-solut | 300333

Growth properties Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

Citation SK-BR-3 (Cytionin luettelonumero 300333)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0033

Biomolekyylitiedot

Protein expression P53-positiivinen

Antigen expression Veriryhmä 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, Fenotyypin frekvenssituote: 0.0044

Tumorigenic Kyllä, alastomilla hiirillä muodostaa heikosti erilaistunutta adenokarsinoomaa

Mutational profile TP53 mut

Karyotype (P9) hypertriploidista hypotetraploidiin (+A, +B, +C, +E, +F, +G, -D), joilla on poikkeavuuksia, kuten diksentrisiä, akrosentrisiä fragmentteja, renkaita, sekundaarisia supistumia, suuria metasentrisiä tai polysentrisiä ja suuria submetasentrisiä merkkejä

Käsittely

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukoosia, w: vakaa glutamiini, w: 2,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820200a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent Accutase

SK-BR-3-solut | 300333

Doubling time 30 tuntia

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 tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Split ratio Suositeltava suhde on 1:2–1:4

Seeding density Aloita viljely kryoputkesta 3×10^4 solua/cm². Käytä 2×10^4 solua/cm² jatkuviin aliviljelmiin.

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

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 osmoprotectanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

SK-BR-3-solut | 300333

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, 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-prosenttisellä 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 $300 \times g$: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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$: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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

SK-BR-3-solut | 300333

Storage Conditions

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

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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

STR-profiili

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-alleelit

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