

SK-BR-3-Luc | 305709

Általános információk

Description

Az SK-BR-3-Luc az emberi SK-BR-3 emlő-adenokarcinóma sejtvonal biolumineszcens származéka, amelyet úgy alakítottak ki, hogy stabilan kifejezze a szentjánosbogár-luciferáz riportergént. Az eredeti SK-BR-3 sejtvonalat egy 43 éves kaukázusi női beteg emlőadenokarcinómájának pleurális folyadékgyülemében előforduló metasztázisából állították elő, és a HER2 (ERBB2) gén amplifikációja és túltermelése jellemzi, ami HER2-pozitív emlőrák-modellként sorolja be. Az SK-BR-3 sejtek epiteliális jellegű egyrétegű növekedést mutatnak, és széles körben használják a HER2-vezérelt emlőrák biológiájának tanulmányozására, valamint a HER2-t célzó terápiák – köztük a trastuzumab, a lapatinib, a pertuzumab és az olyan antitest-gyógyszer konjugátumok, mint a trastuzumab-deruxtecan – értékelésére.

A SK-BR-3-Luc sejtekbe integrált stabil luciferáz lehetővé teszi a tumorterhelés érzékeny, kvantitatív biolumineszcens képalkotását (BLI) immunhiányos gazdaszervezetekben kialakított xenotranszplantációs modellekben. A kibocsátott lumineszcens jel korrelál az életképes tumorsejtek számával, ami lehetővé teszi a tumor beültetésének, növekedési kinetikájának és a terápiás válaszra adott reakciójának nem invazív, longitudinális monitorozását. Az SK-BR-3-Luc különösen értékes az anti-HER2 szerek, az ADC-k, a bispecifikus antitestek és a mellrákban a HER2 jelátviteli tengelyt célzó kombinációs stratégiák preklinikai értékeléséhez, valamint a nagy áteresztőképességű gyógyszereszéshez és az in vivo farmakodinamikai vizsgálatokhoz.

Az SK-BR-3-Luc megőrzi az anyavonal, az SK-BR-3 jól ismert HER2-amplifikált molekuláris fenotípusát és növekedési jellemzőit. A luciferáz-riporter jelentősen növeli a kísérleti áteresztőképességet és az érzékenységet az in vivo képalkotó vizsgálatok során. A kutatóknak a nagyszabású preklinikai alkalmazás előtt saját kísérleti körülményeik között meg kell erősíteniük a luciferáz-aktivitást, a HER2-amplifikáció állapotát és a növekedési kinetikát.

Organism

Emberi

Tissue

Metasztatikus

Disease

Mell adenokarcinóma

Metastatic site

Mellhártya folyadékgyülem

Jellemzők

Age

43 év

Gender

Női

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Epithelszerű

SK-BR-3-Luc | 305709

Growth properties

Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

Citation

SK-BR-3-Luc (Cytion katalógusszám: 305709)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_4Y11

GMO Status

GMO-S1: Ez a sejtvonal egy stabilan integrált szentjánosbogár-luciferáz riporterkazettát (Luc2, kodonoptimalizált) tartalmaz, amelyet replikációra képtelen lentivirális transzdukcióval juttattak be. A kapott poliklonális sejtpopulációt puromicin-szelekció (1–5 µg/mL) mellett tartották fenn. S1-es biztonsági besorolás szükséges. Ez a besorolás kizárólag Németország területén érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

Antigen expression

A vércsoport, Rh+, HLA A11, Bw22(+/-), B40, B18, Luc2 (szentjánosbogár, kodonoptimalizált)

Isoenzymes

PGM3, 1, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1-2, GLO-1, 2, G6PD, B, Fenotípus gyakorisági termék: 0.0044

Tumorigenic

Igen, meztelen egerekben gyengén differenciált adenokarcinómát képez

Mutational profile

Mutáció: p.Arg175His, homozigóta

A kezelése

Culture Medium

McCoys

Supplements

A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent

Accutase

SK-BR-3-Luc | 305709

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Split ratio 1-3

Seeding density $1-3 \times 10^4$ sejt/cm²

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és felnyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuspenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 200 x g-nél 5 percig, a fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót óvatosan dobjuk el.
7. Kövesse a felolvasztás utáni helyreállításnál leírt eljárást

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, párasított légkör.

SK-BR-3-Luc | 305709

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés