

SK-BR-3-Luc | 305709

Bendra informacija

Description

SK-BR-3-Luc yra bioluminescencinis žmogaus krūties adenokarcinomos ląstelių linijos SK-BR-3 darinys, genetiškai modifikuotas taip, kad stabiliai ekspresuotų žibintuvėlio liuciferazės reporterinį geną. Pirminė SK-BR-3 ląstelių linija buvo sukurta iš 43 metų amžiaus kaukazietės pacientės krūties adenokarcinomos metastazės pleuros išsiliejime ir pasižymi HER2 (ERBB2) geno amplifikacija bei perprodukcija, todėl ji klasifikuojama kaip HER2-teigiamas krūties vėžio modelis. SK-BR-3 ląstelės auga epitelio tipo monosluoksniu ir yra plačiai naudojamos HER2 reguliuojamo krūties vėžio biologijai tirti bei HER2 taikiniams terapijoms vertinti, įskaitant trastuzumabą, lapatinibą, pertuzumabą ir antikūnų-vaistų konjugatus, pvz., trastuzumabą-derukstekaną.

Stabili liuciferazės integracija į SK-BR-3-Luc ląsteles leidžia atlikti jautrų, kiekybinį bioluminescencinį vaizdavimą (BLI), vertinant naviko apimtį ksenotransplantacijos modeliuose imuninės sistemos susilpnėjusių recipientų organizmuose. Išspinduliuotas liuminescencinis signalas koreliuoja su gyvybingų naviko ląstelių skaičiumi, o tai leidžia neinvaziniu būdu stebėti naviko prigijimą, augimo kinetiką ir reakciją į gydymą. SK-BR-3-Luc yra ypač vertinga atliekant priešklinikinį anti-HER2 preparatų, ADC, bispecifinių antikūnų ir kombinuotų strategijų, nukreiptų į HER2 signalizacijos ašį krūties vėžio atveju, vertinimą, taip pat atliekant didelio našumo vaistų atranką ir in vivo farmakodinaminius tyrimus.

SK-BR-3-Luc išlaiko nustatytą HER2 amplifikuotą molekulinį fenotipą ir augimo charakteristikas, būdingas pirminės SK-BR-3 linijos ląstelėms. Liuciferazės reporteris žymiai padidina eksperimentų našumą ir jautrumą atliekant in vivo vaizdinimo tyrimus. Prieš pradedant didelio masto ikiklinikinį naudojimą, tyrėjai turėtų patvirtinti liuciferazės aktyvumą, HER2 amplifikacijos būklę ir augimo kinetiką savo konkrečiomis eksperimentinėmis sąlygomis.

Organism

Žmogus

Tissue

Metastazių

Disease

Krūties adenokarcinoma

Metastatic site

Pleuros išskyros

Charakteristikos

Age

43 metai

Gender

Moteris

Ethnicity

Kaukaziečių

Morphology

Į epitelį panašus

Growth properties

Viensluoksnis, prigludęs

SK-BR-3-Luc | 305709

Reguliavimo duomenys

Citation	SK-BR-3-Luc (Cytion katalogo numeris 305709)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4Y11
GMO Status	GMO-S1: Šioje ląstelių linijoje yra stabiliai integruota jonvabalių liuciferazės reporterinė kasetė (Luc2, kodonų atžvilgiu optimizuota), įterpta naudojant replikacijos nesugebančią lentivirusinę transdukciją. Gauta polikloninė ląstelių populiacija buvo išlaikyta atliekant selekciją puromicinu (1–5 µg/mL). Reikalaujamas S1 saugumo lygis. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Antigen expression	Kraujo grupė A, Rh+, HLA A11, Bw22(+/-), B40, B18, Luc2 (vabalas, kodonų optimizuotas)
Isoenzymes	PGM3, 1, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1-2, GLO-1, 2, G6PD, B, Fenotipo dažnio produktas: 0.0044
Tumorigenic	Taip, nuogoms pelėms susidaro silpnai diferencijuota adenokarcinoma
Mutational profile	Mutacija: p.Arg175His, homozigotinė

Tvarkymas

Culture Medium	McCoys
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

SK-BR-3-Luc | 305709

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Split ratio 1-3

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

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 200 x g greičiu 5 minutes, atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpe.
7. Atlikite procedūrą, aprašytą skyriuje "Atkūrimas po atšildymo"

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, drėkintoje atmosferoje.

SK-BR-3-Luc | 305709

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 - 196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė