

SK-BR-3-Luc | 305709

Vispārīga informācija

Description

SK-BR-3-Luc ir cilvēka SK-BR-3 krūts adenokarcinomas šūnu līnijas bioluminiscentis atvasinājums, kas ģenētiski modificēts, lai stabili ekspresētu ugunskurku luciferāzes reportergēnu. Sākotnējā SK-BR-3 šūnu līnija tika izveidota no 43 gadus vecas kaukāziešu izcelsmes sievietes pacienta krūts adenokarcinomas pleiras izplūdes metastāzes un tai raksturīga HER2 (ERBB2) gēna amplifikācija un pārmērīga ekspresija, tādējādi to klasificējot kā HER2-pozitīvu krūts vēža modeli. SK-BR-3 šūnas izrāda epitēlija tipa monoslāņa augšanu un tiek plaši izmantotas, lai pētītu HER2-izraisītā krūts vēža bioloģiju un novērtētu HER2 mērķtiecīgas terapijas, tostarp trastuzumabu, lapatinību, pertuzumabu un antivielu-zāļu konjugātus, piemēram, trastuzumabu-derukstekanu.

Stabilā luciferāzes integrācija SK-BR-3-Luc šūnās ļauj veikt jutīgu, kvantitatīvu bioluminescences attēlveidošanu (BLI), novērtējot audzēja apjomu ksenotransplantātu modeļos imūndeficītiem saņēmējiem. Izstarotais luminescences signāls korelē ar dzīvotspējīgo audzēja šūnu skaitu, tādējādi atbalstot neinvazīvu audzēja ieaugšanas, augšanas kinētikas un terapeitiskās atbildes garenvirziena novērošanu. SK-BR-3-Luc ir īpaši vērtīgs anti-HER2 līdzekļu, ADC, bispecifisko antivielu un kombinēto stratēģiju, kas vērstas uz HER2 signālvadības asi krūts vēža gadījumā, pirmsklīniskai novērtēšanai, kā arī augstas caurlaidspējas zāļu skrīningam un in vivo farmakodinamiskajiem pētījumiem.

SK-BR-3-Luc saglabā izstrādāto HER2 amplificēto molekulāro fenotipu un augšanas īpašības, kas raksturīgas sākotnējai SK-BR-3 līnijai. Luciferāzes reportera klātbūtne ievērojami palielina eksperimentālo caurlaidspēju un jutību in vivo attēlveidošanas pētījumos. Pirms plaša mēroga pirmsklīniskas izmantošanas pētniekiem ir jāpārbauda luciferāzes aktivitāte, HER2 amplifikācijas statuss un augšanas kinētika savos konkrētajos eksperimentālajos apstākļos.

Organism

Cilvēks

Tissue

Metastātisks

Disease

Krūts adenokarcinoma

Metastatic site

Pleiras izsvīdums

Raksturojums

Age

43 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Epitēlijveidīgs

Growth properties

Vienslāņa, adhēzija

SK-BR-3-Luc | 305709

Normatīvie dati

Citation	SK-BR-3-Luc (Cytion kataloga numurs 305709)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4Y11
GMO Status	GMO-S1: Šī šūnu līnija satur stabili integrētu ugunskrēsliņa luciferāzes reporterķasešu (Luc2, kodonu optimizēta), kas ievadīta, izmantojot replikācijas nespējīgu lentivīrusa transdukciju. Iegūtā poliklonālā šūnu populācija tika uzturēta puromicīna selekcijas apstākļos (1–5 µg/ml). Ir nepieciešama S1 drošības klase. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Antigen expression	Asinsgrupa A, Rh+, HLA A11, Bw22(+/-), B40, B18, Luc2 (spožā mušiņa, kodona optimizēta)
Isoenzymes	PGM3, 1, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1-2, GLO-1, 2, G6PD, B, Fenotipu biežuma produkts: 0.0044
Tumorigenic	Jā, kailām pelēm veido vāji diferencētu adenokarcinomu
Mutational profile	Mutācija: p.Arg175His, homozigota

Darbs ar

Culture Medium	Makkoji
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

SK-BR-3-Luc | 305709

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Split ratio no 1 līdz 3

Seeding density 1 līdz 3×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie 200 x g 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

SK-BR-3-Luc | 305709

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze