

SK-BR-3 šūnas | 300333

Vispārīga informācija

Description

SK-BR-3 šūnas ir cilvēka krūts vēža šūnu līnija, kas izolēta no 43 gadus vecas pacientes ar metastātisku krūts vēzi pleiras izplūduma. SKBR3 šūnas tika izveidotas pagājušā gadsimta 70. gadu sākumā, un tās ir pazīstamas ar to, ka tajās ir pārmērīgi ekspresēts cilvēka epidermālā augšanas faktora receptoru 2 (HER2) - receptoru tirozīnkināzi, kam ir būtiska nozīme dažu krūts vēža veidu patoģenēzē un progresēšanā.

Šai šūnu līnijai ir raksturīgas krūts vēzim raksturīgas ģenētiskas aberācijas, tostarp HER2 gēna amplifikācija un mutācijas audzēja supresora gēnā p53. HER2 hiperekspresija SK-BR-3 šūnās padara tās par vērtīgu modeli HER2 pozitīva krūts vēža, kam raksturīga agresīva augšana un slikta prognoze, izpētei un HER2 mērķterapijai. SK-BR-3 šūnas ir bijušas noderīgas, pētot trastuzumabu (Herceptin), monoklonālu antivielu pret HER2, kas ir kļuvusi par HER2 pozitīva krūts vēža ārstēšanas stūrakmeni.

SK-BR-3 šūnām piemīt spēcīgs in vitro augšanas ātrums, un tās ir izmantotas dažādās eksperimentālās iekārtās, tostarp pētījumos par šūnu signalizāciju, rezistenci pret zālēm, apoptozi un vēža šūnu ciklu. Šīs šūnas ir arī galvenais resurss monoklonālo antivielu ražošanai un pētījumiem par imūnsistēmas reakciju uz krūts vēža šūnām.

Kopumā SK-BR-3 šūnu līnija ir neaizstājams krūts vēža pētījumu instruments, kas sniedz padziļinātu ieskatu HER2 pozitīvu audzēju bioloģijā un atvieglo mērķterapijas izstrādi, kas ir ievērojami uzlabojusi izredzes pacientiem ar šo sarežģīto vēža formu.

Organism

Cilvēks

Tissue

Krūtis, piena dziedzeris

Disease

Invazīva duktālā karcinoma

Metastatic site

Pleiras izsvīdums

Synonyms

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

Raksturojums

Age

43 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Epitēlijveidīgs

Growth properties

Vienslāņa, adhēzija

SK-BR-3 šūnas | 300333

Normatīvie dati

Citation	SK-BR-3 (Cytion kataloga numurs 300333)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0033

Biomolekulārie dati

Protein expression	P53 pozitīvs
Antigen expression	A asinsgrupa, Rh+, HLA A11, Bw22(+/-), B40, B18
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	TP53 mutācija
Karyotype	(P9) hipertriploīdi līdz hipotetraploīdi (+A, +B, +C, +E, +F, +G, -D) ar anomālijām, ieskaitot dicentriju, acrocentriskus fragmentus, gredzenus, sekundārus sašaurinājumus, lielu metacentriju vai policentriju un lielu submetacentrisko marķieri

Darbs ar

Culture Medium	McCoy's 5a, w: 3,0 g/l glikoze, w: stabils glutamīns, w: 2,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820200a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 stundas

SK-BR-3 šūnas | 300333

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	leteicams izmantot proporciju no 1:2 līdz 1:4
Seeding density	Sāciet kultivēšanu no kriovialas ar 3×10^4 šūnām/cm ² . Turpiniet subkultivēšanu, izmantojot 2×10^4 šūnas/cm ² .
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm ² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

SK-BR-3 šūnas | 300333

**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 pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

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

SK-BR-3 šūnas | 300333**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums 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 / Ģenētiskais profils / HLA**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

STR profils

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 alēles

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