

Komórki SUM149PT | 300609

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa SUM149PT pochodzi z ludzkiego zapalnego raka piersi (IBC), który reprezentuje agresywny podtyp raka piersi. IBC charakteryzuje się szybką progresją, wczesnymi przerzutami i złym rokowaniem. Komórki SUM149PT są klasyfikowane jako potrójnie ujemny rak piersi (TNBC), pozbawiony ekspresji receptora estrogenowego (ER), receptora progesteronowego (PR) i receptora HER2, co sprawia, że nie reagują one na powszechnie stosowane terapie celowane, takie jak leczenie hormonalne lub inhibitory HER2. Zamiast tego leczenie takich nowotworów zwykle obejmuje chemioterapię cytotoksyczną, chociaż nowotwory te często rozwijają oporność w czasie.

Co istotne, komórki SUM149PT posiadają mutację 2288delT BRCA1, prowadzącą do utraty funkcji BRCA1. Mutacja ta jest delecją z przesunięciem ramki, która powoduje przedwczesne zakończenie białka BRCA1, upośledzając naprawę DNA i promując niestabilność genomu, cechę charakterystyczną nowotworów zmutowanych BRCA1. Utrata BRCA1 przyczynia się do zwiększonej niestabilności chromosomalnej obserwowanej w SUM149PT, który wykazuje liczne aberracje chromosomalne. Oprócz mutacji, locus BRCA1 jest utracony w SUM149PT, co dodatkowo potęguje wpływ na stabilność genomu.

Co zaskakujące, komórki SUM149PT wykazują subpopulację komórek nowotworowych podobnych do macierzystych CD44+/CD24-/Low, która jest wzbogacona o właściwości nowotworowych komórek macierzystych (CSC), takie jak zwiększona inwazja, nowotworzenie i oporność na chemioterapię. Te komórki macierzyste są również związane z amplifikacją centrosomu i podwyższoną aktywnością cykliny E/Cdk2. Zahamowanie Cdk2 w SUM149PT selektywnie celuje w tę subpopulację CSC, przywracając pewną wrażliwość na chemioterapię, co sugeruje, że połączone strategie terapeutyczne ukierunkowane na Cdk2 i konwencjonalną chemioterapię mogą być skuteczne w leczeniu chemioopornego IBC.

Organism Człowiek

Tissue Piersć

Disease Rak zapalny piersi

Synonyms SUM-149PT, SUM 149PT, SUM149-PT, SUM149, SUM-149, SUM 149, 149 PT, 149PT, BrCL12

Charakterystyka

Age 40 lat

Gender Kobieta

Morphology Nabłonek

Growth properties Adherent

Komórki SUM149PT | 300609

Dane regulacyjne

Citation SUM149PT (numer katalogowy Cytion 300609)

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3422

Dane biomolekularne

Protein expression P53 dodatni

Obsługa

Culture Medium Ham's F12, w: 1,0 mM stabilnej glutaminy, w: 1,0 mM pirogromianu sodu, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820600a)

Supplements Uzpełnić podłoże 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki SUM149PT | 300609

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki SUM149PT | 300609

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12
D13S317: 12
D16S539: 11
D5S818: 11
D7S820: 11
TH01: 09. Mrz
TPOX: 9
vWA: 16,18
D3S1358: 17
D21S11: 28,31.2
D18S51: 14,15
Penta E: 11
Penta D: 8,9
D8S1179: 14,16
FGA: 29
D6S1043: 18
D2S1338: 20
D12S391: 15,18
D19S433: 12,14