

Komórki SK-BR-3 | 300333

Informacje ogólne

Description

Komórki SK-BR-3 to ludzka linia komórkowa raka piersi wyizolowana z wysięku opłucnowego 43-letniej pacjentki z przerzutowym rakiem piersi. Komórki SKBR3 powstały we wczesnych latach 70. i są znane z nadekspresji receptora 2 ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu (HER2), receptorowej kinazy tyrozynowej, która odgrywa kluczową rolę w patogenezie i progresji niektórych typów raka piersi.

Linia komórkowa charakteryzuje się aberracjami genetycznymi powszechnymi w raku piersi, w tym amplifikacją genu HER2 i mutacjami w genie supresorowym nowotworu p53. Nadekspresja HER2 w komórkach SK-BR-3 czyni je cennym modelem do badania HER2-dodatniego raka piersi, który charakteryzuje się agresywnym wzrostem i złym rokowaniem, a także do terapii ukierunkowanych na HER2. Komórki SK-BR-3 odegrały kluczową rolę w badaniu trastuzumabu (Herceptin), przeciwciała monoklonalnego przeciwko HER2, które stało się kamieniem węgielnym w leczeniu HER2-dodatniego raka piersi.

Komórki SK-BR-3 wykazują silny wzrost in vitro i były wykorzystywane w różnych konfiguracjach eksperymentalnych, w tym w badaniach nad sygnalizacją komórkową, opornością na leki, apoptozą i cyklem komórkowym raka. Komórki te są również kluczowym źródłem do produkcji przeciwciał monoklonalnych i badań nad odpowiedzią immunologiczną na komórki raka piersi.

Podsumowując, linia komórkowa SK-BR-3 jest niezbędnym narzędziem w badaniach nad rakiem piersi, oferując głęboki wgląd w biologię guzów HER2-dodatnich i ułatwiając rozwój terapii celowanych, które znacznie poprawiły perspektywy dla pacjentów z tą trudną postacią raka.

Organism

Człowiek

Tissue

Piersi, gruczoł sutkowy

Disease

Inwazyjny rak przewodowy

Metastatic site

Wysięk opłucnowy

Synonyms

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

Charakterystyka

Age

43 lata

Gender

Kobieta

Ethnicity

Kaukaski

Morphology

Podobny do nabłonka

Komórki SK-BR-3 | 300333

Growth properties Monowarstwa, przylegająca

Dane regulacyjne

Citation SK-BR-3 (numer katalogowy Cytion 300333)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0033

Dane biomolekularne

Protein expression P53 dodatni

Antigen expression Grupa krwi A, Rh+, HLA A11, Bw22(+/-), B40, B18

Isoenzymes PGM3, 1, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1-2, GLO-1, 2, G6PD, B, produkt częstotliwości fenotypu: 0.0044

Tumorigenic Tak, u nagich myszy tworzy słabo zróżnicowanego gruczolakoraka

Mutational profile TP53 mut

Karyotype (P9) hipertriploidalne do hipotetraploidalnych (+A, +B, +C, +E, +F, +G, -D) z nieprawidłowościami obejmującymi dicentryki, fragmenty akrocentryczne, pierścienie, wtórne zwężenia, duże metacentryki lub policentryki i duży marker submetacentryczny

Obsługa

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukozy, w: stabilna glutamina, w: 2,0 mM pirogronianu sodu, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820200a)

Supplements Uzupelnic podloze 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Komórki SK-BR-3 | 300333**Doubling time** 30 godzin

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. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:4

Seeding density Rozpocznij hodowlę z krioprobówki przy gęstości 3×10^4 komórek/cm². Do dalszych subkultur użyj gęstości 2×10^4 komórek/cm².

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Post-Thaw Recovery Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

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 SK-BR-3 | 300333**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 SK-BR-3 | 300333**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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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 wykluczone 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: 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

Allele HLA

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