

Bunky SUM149PT | 300609**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia SUM149PT je odvodená od ľudského zápalového karcinómu prsníka (IBC), ktorý predstavuje agresívny podtyp rakoviny prsníka. IBC sa vyznačuje rýchlou progresiou, skorým metastázovaním a zlou prognózou. Bunky SUM149PT sú klasifikované ako triple-negatívny karcinóm prsníka (TNBC) bez expresie estrogénového receptora (ER), progesterónového receptora (PR) a receptora HER2, takže nereagujú na bežnú cieleňú liečbu, ako je endokrinná liečba alebo inhibítory HER2. Namiesto toho liečba takýchto rakovín zvyčajne zahŕňa cytotoxickú chemoterapiu, hoci u týchto rakovín sa časom často vyvinie rezistencia.

Dôležité je, že bunky SUM149PT majú mutáciu 2288delT BRCA1, čo vedie k strate funkcie BRCA1. Táto mutácia je deléciou s posunom rámca, ktorá vedie k predčasnému ukončeniu proteínu BRCA1, zhoršuje opravu DNA a podporuje genomickú nestabilitu, čo je charakteristickým znakom rakoviny s mutáciou BRCA1. Strata BRCA1 prispieva k zvýšenej chromozomálnej nestabilite pozorovanej u SUM149PT, ktorý vykazuje početné chromozomálne aberácie. Okrem mutácie je v SUM149PT stratený aj lokus BRCA1, čo ďalej zvyšuje vplyv na genomickú stabilitu.

Prekvapivo, bunky SUM149PT vykazujú subpopuláciu rakovinových buniek podobnú kmeňovým bunkám CD44+/CD24-/Low, ktorá je obohatená o vlastnosti rakovinových kmeňových buniek (CSC), ako je zvýšená invázia, tumorigenéza a odolnosť voči chemoterapii. Tieto kmeňové bunky sú tiež spojené s amplifikáciou centrozómov a zvýšenou aktivitou cyklínu E/Cdk2. Inhibícia Cdk2 v SUM149PT selektívne zasahuje túto subpopuláciu CSC, čím sa obnovuje určitá citlivosť na chemoterapiu, čo naznačuje, že kombinované terapeutické stratégie zamerané na Cdk2 a konvenčnú chemoterapiu by mohli byť účinné pri liečbe chemorezistentného IBC.

Organism

Ľudské

Tissue

Prsia

Disease

Zápalový karcinóm prsníka

Synonyms

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

Charakteristika**Age**

40 rokov

Gender

Ženy

Morphology

Epitelové

Growth properties

Adherent

Regulačné údaje

Bunky SUM149PT | 300609**Citation** SUM149PT (katalógové číslo Cytion 300609)**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3422**Biomolekulárne údaje****Protein expression** P53 pozitívny**Spracovanie****Culture Medium** Ham's F12, w: 1,0 mM stabilný glutamín, w: 1,0 mM pyruvát sodný, w: 1,1 g/L NaHCO₃ (Cytion číslo výrobku 820600a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky SUM149PT | 300609

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky SUM149PT | 300609

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

STR profile

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12
D13S317: 12
D16S539: 11
D5S818: 11
D7S820: 11
TH01: 9. marca
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