Product sheet

Клетки BT-549 | 300132

Обща информация

Description	Клетките BT-549 са човешка клетъчна линия за рак на гърдата, получена от тъканта на млечната жлеза на 72-годишна кавказка жена с дуктален карцином. Те често се използват в раковите изследвания за изучаване на биологията и лечението на рака на гърдата, особено на тройно негативния подтип, при който липсва експресия на естрогеновия рецептор, прогестероновия рецептор и HER2. Клетките BT-549 се характеризират с епителна морфология и са известни с високите си инвазивни свойства, което ги прави ценен модел за изучаване на метастазите и туморната инвазия. Те притежават няколко отличителни характеристики, включително наличието на липидни капчици в цитоплазмата и силна експресия на протеина муцин-1. Тези клетки също така експресират различни онкогени и тумор супресорни гени, които са от значение за патологията на рака на гърдата, като TP53 и RB1. Клетъчната линия BT-549 е естроген-рецептор-отрицателна, прогестерон-рецептор-отрицателна и не амплифицира HER2, като по този начин се причислява към подтипа тройно отрицателен рак на гърдата (TNBC). Благодарение на тази класификация клетките BT-549 са особено полезни за изучаване на уникалните механизми на прогресия и отговор на лечение при TNBC, който е известен с агресивния си характер и липсата на целеви терапии. Освен това клетките BT-549 често се използват в проучвания за лекарствена резистентност и за тестване на нови химиотерапевтични агенти и целеви терапии, като предлагат информация за потенциални терапевтични стратегии за управление и лечение на агресивни форми на рак на гърдата.
Organism	Човек
Tissue	Гърди, млечна жлеза
Disease	Инвазивен дуктален карцином
Metastatic site	Дуктален
Synonyms	BT 549, BT.549, BT549

Характеристики

Age	72 години
Gender	Жена
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Подобни на епител

Клетки BT-549 | 300132

Growth properties	Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation	BT-549 (каталожен номер 300132 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1092

Биомолекулярни данни

Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, продукт за честота на фенотипа: 0.0048
Mutational profile	Мутация на TP53
Karyotype	Режим = 74, диапазон = 53 до 140, три маркерни хромозоми

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1 x 10^4 клетки/cm^2 ще дадат конфулентен слой за около 4 дни

Клетки BT-549 | 300132

Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10^4 клетки/cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Клетки BT-549 | 300132

Flask Coating	За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.
Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.
HLA алели	**A***: '01:01:01, '02:01:01 **B***: '15:17:01, '55:01:01 **C***: '03:03:01, '07:01:02 **DRB1***: '11:01:01, '13:02:01 **DQA1***: '01:02:01, '05:09 **DQB1***: '03:01:01, '06:04:01 **DPB1***: '02:01:02, '04:01:01 **E**: '01:01:01