

BT-20 rakud | 300130

Üldine teave

Description

BT-20 rakuliin on inimese rinna adenokartsinoomi rakuliin, mis loodi 1958. aastal 74-aastase kaukaasia naissoost patsiendi pahaloomalise koe põhjal. Sellel rakuliinil on epiteelilaadne morfoloogia ja seda kasutatakse sageli rinnavähi bioloogiat käsitlevates uuringutes, eelkõige uuringutes, milles uuritakse vähi kasvu hormonaalset regulatsiooni, geeniekspressiooni ja rinnanäärmevähi vastaste ravimite tõhusust.

BT-20 rakke iseloomustab nende võime moodustada immuunpuudulikku hiirtele implanteerituna kasvajaid, mis on seega kasulik in vivo mudel rinnavähi jaoks. Need rakud ekspresseerivad östrogeeni, progesterooni ja androgeeni retseptoreid, mistõttu on nad olulised hormoonide reageerimisradade uurimisel. Lisaks on BT-20 rakkude geneetiline analüüs näidanud mutatsioone sellistes geenides nagu TP53 ja PIK3CA, mis on levinud rinnavähi puhul, mis toetab nende kasutamist geneetilistes ja farmakoloogilistes uuringutes.

In vitro kasutatakse BT-20 rakke vähirakkude proliferatsiooni, migratsiooni ja invasiivsuse mehhanismide uurimiseks. Neid kasutatakse ka kemoterapiaainete tsütotoksilisuse hindamiseks, mistõttu on nad kriitilise tähtsusega vähivastaste ravimite prekliinilises testimises. BT-20 rakkude kohanemisvõime erinevate kultuuritingimustega ja nende tugev kasv in vitro teevad neist väärtusliku ressursi vähiuuringute laboratooriumidele, mis keskenduvad rinnavähi tekkemehhanismidele ja uute ravistrateegiate väljatöötamisele.

Organism	Inimene
Tissue	Rind, rinnanäärme
Disease	Invasiivne ductus kartsinoom
Synonyms	BT 20, BT20

Omadused

Age	74 aastat
Gender	Naised
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Epiteelilaadsed
Growth properties	Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

BT-20 rakud | 300130**Citation** BT-20 (Cytioni katalooginumber 300130)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0178**Biomolekulaarsed andmed****Antigen expression** HLA A1, Bw16 (+/-)**Isoenzymes** PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1-2, G6PD, B, GLO-1, 1-2, fenotüübi sageduse toode: 0.0115**Oncogenes** Wnt4 +, wnt7h +**Tumorigenic** Jah, alasti hiirtel. Moodustab II astme adenokartsinoomi**Reverse transcriptase** Negatiivne**Mutational profile** TP53 mut**Karyotype** Modaal arv = 50, kõige iseloomulikud on paljud suurte subtelotsentriliste markeritega märgid. (P87) Hüperdiploidne, millel on kõrvalekaldeid, sealhulgas fragmenteeritud kromosoomid, katkestused, sekundaarsed kitsendused, translokatsioonid, submetatsentrilised ja telotsentrilised markerid**Töötlemine****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase

BT-20 rakud | 300130

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspendeerida, seejärel tsestrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 1×10^4 rakku/cm² moodustab umbes 6 päeva jooksul konfluentse kihi.

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsestrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsestrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

BT-20 rakud | 300130

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating Puudub

Freezing Procedure Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles **A***: '24:02:01, '24:03:01
B*: '15:01:01, '38:01:01
C*: '03:03:01, '12:03:01
DRB1*: '04:04:01, '13:01:01
DQA1*: '01:03:01, '03:01:01
DQB1*: '03:02:01, '06:03:01
DPB1*: '04:01:01G, '06:01:01G
E: '01:01, '01:03