Product sheet

BFTC-905-solut | 305749

Yleisiä tietoja

Description	BFTC-905-solulinja on ihmisen siirtymäsolukarsinooman (TCC) malli, joka on peräisin naispotilaan korkea-asteisesta papillaarisesta virtsarakkokasvaimesta. Se on kehitetty edustamaan aggressiivista virtsarakkosyöpää, ja sitä on käytetty sytogeneettisissä ja molekyyliprofilointitutkimuksissa virtsarakkokasvaimen biologian ja hoitovasteiden ymmärtämiseksi. BFTC-905:llä on erittäin monimutkainen ja uudelleenjärjestynyt karyotyyppi, joka sisältää useita edistyneille virtsarakkosyöpille tyypillisiä kromosomipoikkeavuuksia. Näihin kuuluvat ei-satunnaiset muutokset, kuten 8p-deleetiot, 8q-duplikaatiot sekä kromosomien 7 ja 20 lisäykset, jotka liittyvät usein taudin etenemiseen ja huonoon ennusteeseen uroteelisyövässä. Laaja karakterisointi monivärisellä fluoresenssi-in-situ-hybridisaatiolla (M-FISH) on paljastanut lukuisia rakenteellisia uudelleenjärjestelyjä BFTC-905:ssä, mukaan lukien kromosomien väliset translokaatiot ja deleetiot, jotka vaikuttavat lokuksiin, joilla voi olla merkitystä tuumorisuppressorigeenien menetyksessä. Erityisesti BFTC-905:ssä esiintyy kromosomin 8p21 deleetio, alue, joka menetetään usein aggressiivisessa TCC:ssä ja joka liittyy tuumorisuppressorigeeneihin. Tämä sytogeneettinen monimutkaisuus tarjoaa arvokkaan mahdollisuuden analysoida geenien toimintaa genomin epävakauden kontekstissa, joka on myöhäisen vaiheen virtsarakkosyövän tunnusmerkki. BFTC-905 on myös sisällytetty laajamittaisiin farmakogenomisiin tutkimuksiin, kuten Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE) ja Genomics of Drug Sensitivity in Cancer (GDSC). Nämä lähteet ovat vahvistaneet BFTC-905:n molekyylitason vastaavuuden primaarisiin virtsarakon kasvaimiin ja mahdollistaneet sen käytön syöpälääkkeiden vasteen ennustavassa mallinnuksessa. Sen moni-omiksen profiili – mukaan lukien geenien ilmentyminen, mutaatiotila, kopioiden lukumäärän vaihtelu ja DNA:n metylaatio – tekee siitä tehokkaan mallin virtsarakkosyöpään liittyvien terapeuttisten kohteiden ja resistenssimekanismien tutkimiseen.
Organism	Ihminen
Tissue	Virtsarakko
Disease	Virtsarakon syöpä
Synonyms	BFTC 905, BFTC905, mustajalka-taudin siirtymävaiheen karsinooma 905

Ominaisuudet

Age	51 vuotta
Gender	Nainen
Ethnicity	Kiinalainen
Morphology	Epiteeli

BFTC-905-solut | 305749

Cell type	Epiteeli
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	BFTC-905 (Cytionin tuotenumero 305749)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1083

Biomolekyylitiedot

Isoenzymes	G6PD; MD; LD
Viruses	Käänteiskopioijaentsyymi negatiivinen; PCR: EBV negatiivinen, HBV negatiivinen, HCV negatiivinen, HHV-8 negatiivinen, HIV-1 negatiivinen, HIV-2 negatiivinen, HTLV-1/2 negatiivinen, MLV negatiivinen, SMRV negatiivinen
Mutational profile	Mutaatio: NRAS, yksinkertainen, p.Gln61Leu (c.182A>T), heterotsygoottinen (Cosmic-CLP=910926), TP53, yksinkertainen, c.673-2A>T (IVS6-2A>T), homotsygoottinen, huomautus = splice-akseptorimutaatio (Cosmic-CLP=910926)

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	60–70 tuntia

BFTC-905-solut | 305749

Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	1–3 x 10^4 solua/cm^2
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 %$_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.