

BT-20-kennot | 300130

Yleisiä tietoja

Description

BT-20-solulinja on ihmisen rintojen adenokarsinooma-solulinja, joka perustettiin vuonna 1958 74-vuotiaan valkoihoisen naispotilaan pahanlaatuisesta kudoksesta. Tällä solulinjalla on epiteelin kaltainen morfologia, ja sitä käytetään usein rintasyövän biologiaan keskittyvässä tutkimuksessa, erityisesti tutkimuksissa, joissa selvitetään syövän kasvun hormonaalista säätelyä, geeniekspressiota ja rintasyöpään kohdistuvien terapeuttisten aineiden tehoa.

BT-20-soluille on ominaista niiden kyky muodostaa kasvaimia, kun ne istutetaan immuunipuutteisiin hiiriin, ja ne toimivat siten hyödyllisenä rintasyövän in vivo -mallina. Nämä solut ilmentävät estrogeeni-, progesteroni- ja androgeenireseptoreita, minkä vuoksi ne ovat merkityksellisiä hormonivasteiden tutkimuksessa. Lisäksi BT-20-solujen geneettisessä analyysissä on havaittu mutaatioita esimerkiksi TP53- ja PIK3CA-geeneissä, jotka ovat yleisiä rintasyövässä, mikä tukee niiden käyttöä geneettisessä ja farmakologisessa tutkimuksessa.

In vitro BT-20-soluja käytetään syöpäsolujen proliferaation, migraation ja invaasion mekanismien tutkimiseen. Niitä käytetään myös kemoterapia-aineiden sytotoksisuuden arviointiin, minkä vuoksi ne ovat kriittisiä syöpälääkkeiden prekliinisessä testauksessa. BT-20-solujen sopeutumiskyky erilaisiin viljelyolosuhteisiin ja niiden vankka in vitro -kasvu tekevät niistä arvokkaan resurssin syöpätutkimuslaboratorioille, jotka keskittyvät rintasyövän taustalla oleviin mekanismeihin ja uusien hoitostrategioiden kehittämiseen.

Organism	Ihminen
Tissue	Rinta, rintarauhanen
Disease	Invasiivinen duktaalikarsinooma
Synonyms	BT 20, BT20

Ominaisuudet

Age	74 vuotta
Gender	Nainen
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Epiteelin kaltainen
Growth properties	Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

BT-20-kennot | 300130

Citation	BT-20 (Cytionin luettelonumero 300130)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0178
-----------------------------	-----------

Biomolekyylitiedot

Antigen expression	HLA A1, Bw16 (+/-)
---------------------------	--------------------

Isoenzymes	PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1-2, G6PD, B, GLO-1, 1-2, Fenotyypin frekvenssituote: 0.0115
-------------------	---

Oncogenes	Wnt4 +, wnt7h +
------------------	-----------------

Tumorigenic	Kyllä, alastomilla hiirillä. Muodostaa II asteen adenokarsinomia
--------------------	--

Reverse transcriptase	Negatiivinen
------------------------------	--------------

Mutational profile	TP53 mut
---------------------------	----------

Karyotype	Modaaliluku = 50, tyypillisimpiä ovat monet markkerit, joissa on suuret subtelosentriset merkit. (P87) Hyperdiploidinen, poikkeavuuksia, mukaan lukien pirstaleiset kromosomit, katkokset, sekundaariset supistumat, translokaatiot, submetasentriset ja telosentriset markkerit
------------------	--

Käsittely

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820400a)
-----------------------	---

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

BT-20-kennot | 300130

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 tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Seeding density 1×10^4 solua/cm² tuottaa konfluenttisen kerroksen noin 6 päivässä.

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 osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, 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 antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä 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.

BT-20-kennot | 300130

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating Ei mitään

Freezing Procedure 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.

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 tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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