

BT-549-solut | 300132

Yleisiä tietoja

Description

BT-549-solut ovat ihmisen rintasyöpäsoluminjalinja, joka on peräisin 72-vuotiaan valkoihoisen naisen rintarauhaskudoksesta, jolla oli duktaalikarsinooma. Niitä käytetään yleisesti syöpätutkimuksessa rintasyövän biologian ja hoidon tutkimiseen, erityisesti kolmoisnegatiivisen alatyypin, josta puuttuu estrogeenireseptorin, progesteronireseptorin ja HER2:n ilmentyminen.

BT-549-soluille on ominaista niiden epiteelimorfologia, ja ne ovat tunnettuja erittäin invasiivisista ominaisuuksistaan, mikä tekee niistä arvokkaan mallin metastaasien ja kasvaimen invaasion tutkimiseen. Niillä on useita erityispiirteitä, kuten lipidipisaroiden esiintyminen sytoplasmassa ja mucin-1-proteiinin voimakas ilmentyminen. Nämä solut ilmentävät myös useita rintasyövän patologian kannalta merkityksellisiä onkogeenejä ja kasvainsuppressorigenejä, kuten TP53 ja RB1.

BT-549-soluminjalinja on estrogeenireseptorinegatiivinen, progesteronireseptorinegatiivinen, eikä se monista HER2:ta, joten se kuuluu kolmoisnegatiivisen rintasyövän (TNBC) alatyypin. Tämän luokittelun vuoksi BT-549-solut ovat erityisen käyttökelpoisia tutkittaessa TNBC:n ainutlaatuisia etenemis- ja hoitovastusmekanismeja, sillä TNBC on tunnettu aggressiivisesta luonteestaan ja kohdennettujen hoitojen puutteesta.

Lisäksi BT-549-soluja käytetään usein lääkeresistenssitutkimuksissa sekä uusien kemoterapeuttisten aineiden ja kohdennettujen hoitojen testaamiseen, mikä tarjoaa tietoa mahdollisista hoitostrategioista aggressiivisten rintasyöpämuotojen hallitsemiseksi ja hoitamiseksi.

Organism

Ihminen

Tissue

Rinta, rintarauhanen

Disease

Invasiivinen duktaalikarsinooma

Metastatic site

Ductal

Synonyms

BT 549, BT.549, BT549, BT549

Ominaisuudet

Age

72 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Kaukasialainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

Growth properties

Yksikerroksinen, tarttuva

BT-549-solut | 300132

Säätelytiedot

Citation	BT-549 (Cytionin luettelonumero 300132)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1092

Biomolekyyli tiedot

Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, Fenotyypin frekvenssituote: 0.0048
Mutational profile	TP53 mut
Karyotype	Tila = 74, vaihteluväli = 53-140, kolme merkkikromosomia

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
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 väliainetta.
Seeding density	1 x 10 ⁴ solua/cm ² tuottaa konfluenttisen kerroksen noin 4 päivässä.
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa

BT-549-solut | 300132

Post-Thaw Recovery

Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

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 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 jäädästä 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.

Flask Coating

Ei mitään

BT-549-solut | 300132**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä 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 kuivajäädssä 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 ja molekyylianalyysi**Sterility**

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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

HLA-alleelit

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