

BT-549 ląstelės | 300132

Bendra informacija

Description

BT-549 ląstelės yra žmogaus krūties vėžio ląstelių linija, gauta iš 72 metų kaukazietės moters, sergančios latakine karcinoma, pieno liaukos audinio. Jos dažnai naudojamos vėžio tyrimuose, tiriant krūties vėžio biologiją ir gydymą, ypač trigubai neigiamo potipio, kuriame nėra estrogenų receptorių, progesterono receptorių ir HER2 raiškos.

BT-549 ląstelės pasižymi epitelio morfologija ir pasižymi itin invazinėmis savybėmis, todėl yra vertingas modelis metastazėms ir naviko invazijai tirti. Joms būdingi keli išskirtiniai bruožai, įskaitant lipidų lašelius citoplazmoje ir stiprią mucin-1 baltymo raišką. Šiose ląstelėse taip pat ekspresuojami įvairūs krūties vėžio patologijai svarbūs onkogenai ir naviką slopinantys genai, pavyzdžiui, TP53 ir RB1.

BT-549 ląstelių linija yra neigiama estrogenų receptoriams, neigiama progesterono receptoriams ir neturi HER2 amplifikacijos, todėl priskiriama trigubai neigiamo krūties vėžio (TNBC) potipiui. Dėl šios klasifikacijos BT-549 ląstelės yra ypač naudingos tiriant unikalius TNBC, kuris pasižymi agresyvumu ir taikinių terapijos trūkumu, progresavimo ir atsako į gydymą mechanizmus.

Be to, BT-549 ląstelės dažnai naudojamos atsparumo vaistams tyrimams ir naujų chemoterapinių preparatų bei tikslinės terapijos bandymams, todėl galima susipažinti su galimomis terapinėmis strategijomis, skirtomis agresyvioms krūties vėžio formoms valdyti ir gydyti.

Organism

Žmogus

Tissue

Krūtys, pieno liauka

Disease

Invazinė duktalinė karcinoma

Metastatic site

Duktalinis

Synonyms

BT 549, BT.549, BT549

Charakteristikos

Age

72 metai

Gender

Moteris

Ethnicity

Kaukaziečių

Morphology

Į epitelį panašus

Growth properties

Viensluoksnis, prigludęs

BT-549 ląstelės | 300132

Reguliavimo duomenys

Citation	BT-549 (Cytion katalogo numeris 300132)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1092

Biomolekuliniai duomenys

Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, Fenotipo dažnio produktas: 0.0048
Mutational profile	TP53 mutavimas
Karyotype	Režimas = 74, intervalas = 53-140, trys žymėjimo chromosomos

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO ₃ , š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	1 x 10 ⁴ ląstelės/cm ² per maždaug 4 dienas sudarys konfluentinį sluoksnį.
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę

BT-549 ląstelės | 300132**Post-Thaw Recovery**

Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švairiu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikytės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

BT-549 ląstelės | 300132

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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