

BT-20 šūnas | 300130

Vispārīga informācija

Description

BT-20 šūnu līnija ir cilvēka krūts adenokarcinomas šūnu līnija, kas tika izveidota 1958. gadā no 74 gadus vecas kaukāziešu sievietes ļaundabīgajiem audiem. Šai šūnu līnijai piemīt epitēlijam līdzīga morfoloģija, un to bieži izmanto pētījumos, kas vērsti uz krūts vēža bioloģiju, jo īpaši pētījumos, kuros pēta vēža augšanas hormonālo regulāciju, gēnu ekspresiju un terapeitisko līdzekļu efektivitāti pret krūts vēzi.

BT-20 šūnām ir raksturīga spēja veidot audzējus, ja tās implantē imūnkompromitētām pelēm, tādējādi tās kalpo kā noderīgs krūts vēža in vivo modelis. Šīs šūnas ekspresē estrogēna, progesterona un androgēna receptorus, tādējādi tās ir piemērotas hormonu atbildes reakcijas ceļu pētījumiem. Turklāt BT-20 šūnu ģenētiskajā analīzē ir atklātas mutācijas tādos gēnos kā TP53 un PIK3CA, kas ir bieži sastopami krūts vēža gadījumā, tādējādi atbalstot to izmantošanu ģenētiskos un farmakoloģiskos pētījumos.

In vitro BT-20 šūnas izmanto, lai pētītu vēža šūnu proliferācijas, migrācijas un invāzijas mehānismus. Tās izmanto arī ķīmijterapijas līdzekļu citotoksicitātes novērtēšanai, tāpēc tās ir ļoti svarīgas preklīniskajos pretvēža zāļu testos. BT-20 šūnu pielāgošanās dažādiem kultūras apstākļiem un to spēcīgā augšana in vitro padara tās par vērtīgu resursu vēža pētniecības laboratorijām, kas pievēršas krūts vēža pamatmehānismu izpētei un jaunu terapeitisko stratēģiju izstrādei.

Organism	Cilvēks
Tissue	Krūtis, piena dziedzeris
Disease	Invazīva duktālā karcinoma
Synonyms	BT 20, BT20

Raksturojums

Age	74 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Epitēlijveidīgs
Growth properties	Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

BT-20 šūnas | 300130

Citation BT-20 (Cytion kataloga numurs 300130)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0178

Biomolekulārie dati

Antigen expression HLA A1, Bw16 (+/-)

Isoenzymes PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1-2, G6PD, B, GLO-1, 1-2, Fenotipu biežuma produkts: 0.0115

Oncogenes Wnt4 +, wnt7h +

Tumorigenic Jā, kailām pelēm. Veido II pakāpes adenokarcinomas

Reverse transcriptase Negatīvs

Mutational profile TP53 mutācija

Karyotype Modālais skaits = 50, raksturīgākie ir daudzi marķieri ar lieliem subtlocetriem. (P87) Hiperdiploīds ar anomālijām, tostarp fragmentētām hromosomām, pārrāvumiem, sekundāriem sašaurinājumiem, translokācijām, submetacentriskiem un telocentriskiem marķieriem

Darbs ar

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

BT-20 šūnas | 300130

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density 1×10^4 šūnas/cm² veidos konfluentu slāni aptuveni 6 dienu laikā.

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

BT-20 šūnas | 300130

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating Nevieni

Freezing Procedure Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles
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