

BT-549 šūnas | 300132

Vispārīga informācija

Description

BT-549 šūnas ir cilvēka krūts vēža šūnu līnija, kas iegūta no 72 gadus vecas baltādainas sievietes piena dziedzeru audiem ar dukta karcinomu. Tās parasti izmanto vēža pētījumos, lai pētītu krūts vēža bioloģiju un ārstēšanu, jo īpaši trīskārši negatīvo apakštipu, kam trūkst estrogēnu receptoru, progesterona receptoru un HER2 ekspresijas.

BT-549 šūnām ir raksturīga epitēlija morfoloģija, un tās ir pazīstamas ar savām ļoti invazīvajām īpašībām, padarot tās par vērtīgu modeli metastāžu un audzēja invāzijas pētīšanai. Tām piemīt vairākas raksturīgas iezīmes, tostarp lipīdu pilieni klātbūtnē citoplazmā un spēcīga mucīna-1 proteīna ekspresija. Šīs šūnas arī ekspresē dažādus onkogēnus un audzēja supresoru gēnus, kas ir svarīgi krūts vēža patoloģijai, piemēram, TP53 un RB1.

BT-549 šūnu līnija ir estrogēnu receptoru negatīva, progesterona receptoru negatīva un nespēj amplificēt HER2, tādējādi to iedala trīskārši negatīvā krūts vēža (TNBC) apakštipa kategorijā. Pateicoties šai klasifikācijai, BT-549 šūnas ir īpaši noderīgas, lai pētītu unikālos progresēšanas un atbildes reakcijas uz ārstēšanu mehānismus TNBC, kas ir pazīstams ar savu agresīvo raksturu un mērķterapijas trūkumu.

Turklāt BT-549 šūnas bieži izmanto zāļu rezistences pētījumos un jaunu ķīmijterapeitisko līdzekļu un mērķterapiju testēšanā, sniedzot ieskatu potenciālajās terapeitiskajās stratēģijās agresīvu krūts vēža formu ārstēšanai un ārstēšanai.

Organism

Cilvēks

Tissue

Krūtis, piena dziedzeris

Disease

Invazīva dukta karcinoma

Metastatic site

Duktāls

Synonyms

BT 549, BT.549, BT549

Raksturojums

Age

72 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Epitēlijevīdīgs

Growth properties

Vienslāņa, adhēzija

BT-549 šūnas | 300132

Normatīvie dati

Citation	BT-549 (Cytion kataloga numurs 300132)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1092

Biomolekulārie dati

Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, Fenotipu biežuma produkts: 0.0048
Mutational profile	TP53 mutācija
Karyotype	Moduss = 74, diapazons = 53 līdz 140, trīs marķieru hromosomas

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņem 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 x 10 ⁴ šūnas/cm ² veidos konfluentu slāni apmēram 4 dienu laikā.
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā

BT-549 šūnas | 300132

Post-Thaw Recovery

Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

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 pārnesiet 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.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

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

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma 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 šķidruma 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 starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze**Sterility**

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

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

HLA alēles

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