

Komórki BT-549 | 300132

Informacje ogólne

Description

Komórki BT-549 to ludzka linia komórkowa raka piersi pochodząca z tkanki gruczołu sutkowego 72-letniej kobiety rasy kaukaskiej z rakiem przewodowym. Są one powszechnie wykorzystywane w badaniach nad rakiem do badania biologii i leczenia raka piersi, w szczególności podtypu potrójnie ujemnego, w którym brakuje receptora estrogenowego, receptora progesteronowego i ekspresji HER2.

Komórki BT-549 charakteryzują się morfologią nabłonkową i są znane ze swoich wysoce inwazyjnych właściwości, co czyni je cennym modelem do badania przerzutów i inwazji guza. Wykazują one kilka charakterystycznych cech, w tym obecność kropelek lipidów w cytoplazmie i silną ekspresję białka mucyny-1. Komórki te wyrażają również różne onkogeny i geny supresorowe nowotworów, które są istotne dla patologii raka piersi, takie jak TP53 i RB1.

Linia komórkowa BT-549 jest ujemna pod względem receptora estrogenowego, ujemna pod względem receptora progesteronowego i nie amplifikuje HER2, co klasyfikuje ją do podtypu potrójnie ujemnego raka piersi (TNBC). Ze względu na tę klasyfikację, komórki BT-549 są szczególnie przydatne do badania unikalnych mechanizmów progresji i odpowiedzi na leczenie w TNBC, który jest znany ze swojej agresywnej natury i braku terapii celowanych.

Co więcej, komórki BT-549 są często wykorzystywane w badaniach oporności na leki oraz do testowania nowych środków chemioterapeutycznych i terapii celowanych, oferując wgląd w potencjalne strategie terapeutyczne w leczeniu agresywnych form raka piersi.

Organism

Człowiek

Tissue

Piersi, gruczoł sutkowy

Disease

Inwazyjny rak przewodowy

Metastatic site

Kanałowy

Synonyms

BT 549, BT.549, BT549

Charakterystyka

Age

72 lata

Gender

Kobieta

Ethnicity

Kaukaski

Morphology

Podobny do nabłonka

Komórki BT-549 | 300132

Growth properties Monowarstwa, przylegająca

Dane regulacyjne

Citation BT-549 (numer katalogowy Cytion 300132)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1092

Dane biomolekularne

Isoenzymes G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, produkt częstotliwości fenotypu: 0.0048

Mutational profile TP53 mut

Karyotype Tryb = 74, zakres = 53 do 140, trzy chromosomy markerowe

Obsługa

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Supplements Uzuppełnić podłoże 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecany jest stosunek 1:2

Komórki BT-549 | 300132

Seeding density 1 x 10⁴ komórek/cm² utworzy zlewającą się warstwę w ciągu około 4 dni.

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Post-Thaw Recovery Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5 x 10⁴ komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Komórki BT-549 | 300132

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, nawilżona atmosfera.

Flask Coating Brak

Freezing Procedure Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Komórki BT-549 | 300132

Profil STR

Amelogenin: x,x

CSF1PO: 10,12

D13S317: 11

D16S539: 8

D5S818: 11

D7S820: 9, 10

TH01: 9.3

TPOX: 8

vWA: 15

D3S1358: 18

D21S11: 32.2

D18S51: 15

Penta E: 14

Penta D: 13

D8S1179: 14, 16

FGA: 19

D1S1656: 12, 17.3

D6S1043: 11

D2S1338: 17

D12S391: 20

D19S433: 15.2

Allele HLA

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