Product sheet

Клетки BT-474 | 300131

Обща информация

Description	BT-474 е човешка клетъчна линия за рак на гърдата, получена от дуктален карцином на 60-годишна жена. Тази клетъчна линия е положителна за естрогенови и прогестеронови рецептори, което я прави ценен модел за изследване на хормонореактивни видове рак на гърдата. Клетките BT-474 се характеризират и със свръхекспресия на HER2/neu (човешки рецептор за епидермален растежен фактор 2) - белтък, който е амплифициран и играе решаваща роля в патогенезата и прогресията на някои агресивни видове рак на гърдата. Клетъчната линия BT-474 се използва широко в онкологичните изследвания за изучаване на молекулярните механизми на пролиферацията на рака на гърдата и за тестване на терапевтични стратегии, насочени към хормоналните рецептори и пътя на HER2. Тези клетки са особено полезни за изследване на ефикасността на терапиите, насочени към HER2, като например трастузумаб (Herceptin), и за проучване на механизмите на резистентност към тези терапии. Клетъчната линия е допринесла и за напредъка в разбирането на това как хормоналните манипулации влияят върху растежа и оцеляването на раковите клетки, предоставяйки информация за потенциални подходи за лечение на хормонозависими тумори.
Organism	Човек
Tissue	Гърди, млечна жлеза
Disease	Инвазивен дуктален карцином
Metastatic site	Дуктален
Synonyms	Bt-474, BT474

Характеристики

Age	60 години
Gender	Жена
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Подобни на епител
Growth properties	Клетките растат в компактни, бавно растящи многослойни колонии, които рядко стават сливащи се. Не се образува слят монослой.

Регулаторни данни

Клетки BT-474 | 300131

Citation	BT-474 (каталожен номер 300131 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0179

Биомолекулярни данни

Receptors expressed	HER-2/NEU+, ER+, PR+
Isoenzymes	G6PD, B, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 1, Фенотип Честота на продукта: 0.0426
Tumorigenic	Да, при голи мишки
Virus susceptibility	Миши туморен вирус на млечната жлеза (RIII-MuMTV)
MSI-status	Стабилен (MSS)
Mutational profile	Мутация на TP53
Karyotype	Режим = 55, диапазон = 50 до 112, бимодално изместване 58 - 59 и 100 в по-късните пасажи с 3 маркерни хромозоми

Работа с

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO3 (номер на изделието на Cytion 820400a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS, 10 микрограма/ml инсулин
Doubling time	60 до 80 часа

Клетки BT-474 | 300131

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	2 x 10^4 клетки/cm^2 ще дадат предимно конфлуентен слой за около 4 дни.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	Почти 100% възстановени клетки с >90% жизнеспособност
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки BT-474 | 300131

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки BT-474 | 300131

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.
HLA алели	**A***: '01:01:01, '29:02:01 **B***: '07:02:01, '44:03:01 **C***: '07:02:01, '16:01:01 **DRB1***: '04:01, '15:01 **DQA1***: '01:02:01, '03:03:01 **DQB1***: '06:02:01 **DPB1***: '04:01:01G, '05:01:01G **E**: '01:01:01, '01:03:02