**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.<br><br>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 или 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

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

### 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 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. |
| **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 / Генетичен профил / HLA

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.<br><br>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<br>**B***: '07:02:01, '44:03:01<br>**C***: '07:02:01, '16:01:01<br>**DRB1***: '04:01, '15:01<br>**DQA1***: '01:02:01, '03:03:01<br>**DQB1***: '06:02:01<br>**DPB1***: '04:01:01G, '05:01:01G<br>**E**: '01:01:01, '01:03:02 |