Product sheet

Buňky BT-474 | 300131

Obecné informace

Description	BT-474 je lidská buněčná linie karcinomu prsu odvozená z duktálního karcinomu 60leté ženy. Tato buněčná linie je pozitivní na estrogenové a progesteronové receptory, což z ní činí cenný model pro studium karcinomu prsu reagujícího na hormony. Buňky BT-474 se rovněž vyznačují nadměrnou expresí HER2/neu (receptoru pro lidský epidermální růstový faktor 2), což je protein, který je amplifikován a hraje klíčovou roli v patogenezi a progresi některých agresivních typů karcinomu prsu. Buněčná linie BT-474 se hojně využívá v onkologickém výzkumu ke studiu molekulárních mechanismů proliferace karcinomu prsu a k testování terapeutických strategií zaměřených na hormonální receptory a dráhu HER2. Tyto buňky jsou zvláště užitečné pro zkoumání účinnosti terapií zaměřených na HER2, jako je trastuzumab (Herceptin), a pro zkoumání mechanismů rezistence vůči těmto léčebným postupům. Tato buněčná linie také přispěla k pokroku v pochopení toho, jak hormonální manipulace ovlivňují růst a přežívání nádorových buněk, což poskytuje poznatky o možných léčebných postupech u hormonálně závislých nádorů.
Organism	Člověk
Tissue	Prsa, mléčná žláza
Disease	Invazivní duktální karcinom
Metastatic site	Duktální
Synonyms	Bt-474, BT474

Charakteristika

Age	60 let
Gender	Ženy
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Buňky rostou v kompaktních, pomalu rostoucích vícevrstvých koloniích, které se zřídka stávají splývajícími. Konfluentní monovrstva se netvoří.

Regulační údaje

Citation	BT-474 (katalogové číslo Cytion 300131)

Buňky BT-474 | 300131

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0179

Biomolekulární data

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, produkt fenotypové frekvence: 0.0426
Tumorigenic	Ano, u nahých myší
Virus susceptibility	Myší virus nádoru prsu (RIII-MuMTV)
MSI-status	Stabilní (MSS)
Mutational profile	Mutace TP53
Karyotype	Mód = 55, rozsah = 50 až 112, bimodální posun 58 - 59 a 100 v pozdějších pasážích se 3 markerovými chromozomy

Zpracování

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS, 10 mikrogramů/ml inzulínu
Doubling time	60 až 80 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Buňky BT-474 | 300131

Split ratio	Doporučuje se poměr 1:2 až 1:3
Seeding density	2 x 10^4 buněk/cm^2 vytvoří přibližně za 4 dny téměř souvislou vrstvu.
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Post-Thaw Recovery	Téměř 100 % obnovených buněk s životaschopností >90 %
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Buňky BT-474 | 300131

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Buňky BT-474 | 300131

Profil STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 10,11 **D13S317**: 11 **D16S539**: 9, 11 **D5S818**: 11, 13 **D7S820**: 9, 12 **TH01**: 7 **TPOX**: 8 **vWA**: 15, 16 **D3S1358**: 17 **D21S11**: 28, 32.2 **D18S51**: 13, 18 **D8S1179**: 10, 12 **FGA**: 22, 25 **D1S1656**: 13, 15.3 **D2S1338**: 19 **D12S391**: 17, 18 **D19S433**: 14, 17
Alely HLA	**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