

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 NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS, 10 mikrogramů/ml inzulinu
Doubling time	60 až 80 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. 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 odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, 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 2×10^4 buněk/cm² 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 kryem.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, 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 odstředujte 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 / Genetický profil / HLA

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