Product sheet

BT-474-celler | 300131

Generel information

Description	BT-474 er en human brystkræftcellelinje, der stammer fra et duktalt karcinom fra en 60-årig kvinde. Denne cellelinje er østrogen- og progesteronreceptorpositiv, hvilket gør den til en værdifuld model til undersøgelse af hormonresponsive brystkræftformer. BT-474-celler er også karakteriseret ved overudtryk af HER2/neu (human epidermal vækstfaktorreceptor 2), et protein, der forstærkes og spiller en kritisk rolle i patogenesen og udviklingen af visse aggressive typer af brystkræft. BT-474-cellelinjen bruges i vid udstrækning i onkologisk forskning til at undersøge de molekylære mekanismer for spredning af brystkræft og til at teste terapeutiske strategier rettet mod hormonreceptorer og HER2-stien. Disse celler er særligt nyttige til at undersøge effekten af HER2-målrettede behandlinger, såsom trastuzumab (Herceptin), og til at udforske mekanismer for resistens over for disse behandlinger. Cellelinjen har også bidraget til fremskridt i forståelsen af, hvordan hormonelle manipulationer påvirker kræftcellers vækst og overlevelse, hvilket giver indsigt i potentielle behandlingsmetoder for hormonafhængige tumorer.
Organism	Menneske
Tissue	Bryst, brystkirtel
Disease	Invasivt duktalt karcinom
Metastatic site	Duktal
Synonyms	Bt-474, BT474

Karakteristika

Age	60 år
Gender	Kvinde
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Cellerne vokser i kompakte, langsomt voksende kolonier i flere lag, som sjældent bliver sammenflydende. Der dannes ikke et konfluerende monolag.

Regulatoriske data

Citation	BT-474 (Cytion katalognummer 300131)

BT-474-celler | 300131

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0179

Biomolekylære 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, Fænotypefrekvensprodukt: 0.0426
Tumorigenic	Yeees, i nøgne mus
Virus susceptibility	Brysttumorvirus fra mus (RIII-MuMTV)
MSI-status	Stabil (MSS)
Mutational profile	TP53 mut
Karyotype	Tilstand = 55, interval = 50 til 112, bimodalt skift 58 - 59 og 100 i senere passager med 3 markørkromosomer

Håndtering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Sodium pyruvate, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS, 10 mikrogram/mL insulin
Doubling time	60 til 80 timer
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

BT-474-celler | 300131

Seeding density	2 x 10^4 celler/cm^2 vil give et næsten sammenhængende lag på ca. 4 dage.
Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
Post-Thaw Recovery	Næsten 100 % gendannede celler med >90 % levedygtighed
Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.
Thawing and Culturing Cells	1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet. 3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage. 4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes. 5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt. 6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium. 7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst. 8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befugtet atmosfære.

BT-474-celler | 300131

Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Shipping Conditions	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Storage Conditions	For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility	Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.
HLA-alleler	**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