Product sheet

BT-474-Zellen | 300131

Allgemeine Informationen

Description	BT-474 ist eine menschliche Brustkrebszelllinie, die aus dem duktalen Karzinom einer 60-jährigen Frau gewonnen wurde. Diese Zelllinie ist Östrogen- und Progesteronrezeptor-positiv, was sie zu einem wertvollen Modell für die Untersuchung hormonempfindlicher Brustkrebsarten macht. BT-474-Zellen zeichnen sich außerdem durch eine Überexpression von HER2/neu (humaner epidermaler Wachstumsfaktor-Rezeptor 2) aus, einem Protein, das verstärkt vorkommt und eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese und dem Fortschreiten bestimmter aggressiver Brustkrebsarten spielt. Die Zelllinie BT-474 wird in der onkologischen Forschung häufig verwendet, um die molekularen Mechanismen der Brustkrebsausbreitung zu untersuchen und therapeutische Strategien zu testen, die auf Hormonrezeptoren und den HER2-Signalweg abzielen. Diese Zellen sind besonders nützlich für die Untersuchung der Wirksamkeit von Therapien, die auf HER2 abzielen, wie z. B. Trastuzumab (Herceptin), und für die Erforschung von Resistenzmechanismen gegen diese Behandlungen. Die Zelllinie hat auch zu Fortschritten im Verständnis dessen beigetragen, wie hormonelle Manipulationen das Wachstum und das Überleben von Krebszellen beeinflussen, was Einblicke in potenzielle Behandlungsansätze für hormonabhängige Tumore ermöglicht.
Organism	Menschen
Tissue	Brust, Brustdrüse
Disease	Invasives duktales Karzinom
Metastatic site	Duktal
Synonyms	Bt-474, BT474

Merkmale

Age	60 Jahre
Gender	Weiblich
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Epithelähnlich
Growth properties	Die Zellen wachsen in kompakten, langsam wachsenden, mehrschichtigen Kolonien, die nur selten konfluent werden. Ein konfluenter Monolayer wird nicht gebildet.

Regulatorische Daten

BT-474-Zellen | 300131

Citation	BT-474 (Cytion Katalognummer 300131)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0179

Biomolekulare Daten

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, Phänotyp-Häufigkeitsprodukt: 0.0426
Tumorigenic	Ja, in Nacktmäusen
Virus susceptibility	Maus-Mammatumor-Virus (RIII-MuMTV)
MSI-status	Stabil (MSS)
Mutational profile	TP53 mut
Karyotype	Modus = 55, Bereich = 50 bis 112, bimodale Verschiebung 58 - 59 und 100 in späteren Passagen mit 3 Markerchromosomen

Handhabung

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 Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion-Artikelnummer 820400a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS, 10 Mikrogramm/ml Insulin
Doubling time	60 bis 80 Stunden

BT-474-Zellen | 300131

Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Split ratio	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:2 bis 1:3
Seeding density	2 x 10^4 Zellen/cm² ergeben in etwa 4 Tagen eine weitgehend konfluente Schicht.
Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche
Post-Thaw Recovery	Nahezu 100 % wiederhergestellte Zellen mit >90 % Lebensfähigkeit
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

BT-474-Zellen | 300131

Thawing and Culturing Cells	1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten. 2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist. 3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt. 4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol. 5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen. 6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. 7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern. 8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

BT-474-Zellen | 300131

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.
STR-Profil	**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
HLA-Allele	**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