Product sheet

Κύτταρα BT-474 | 300131

Γενικές πληροφορίες

Description	Η BT-474 είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά καρκίνου του μαστού, που προέρχεται από το καρκίνωμα του πόρου μιας γυναίκας 60 ετών. Αυτή η κυτταρική σειρά είναι θετική στους υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης, γεγονός που την καθιστά πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη των ορμονοαντιδραστικών καρκίνων του μαστού. Τα κύτταρα BT-474 χαρακτηρίζονται επίσης από υπερέκφραση του HER2/neu (υποδοχέας 2 του ανθρώπινου επιδερμικού αυξητικού παράγοντα), μιας πρωτεΐνης που ενισχύεται και διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην παθογένεια και την εξέλιξη ορισμένων επιθετικών τύπων καρκίνου του μαστού. Η κυτταρική σειρά BT-474 χρησιμοποιείται εκτενώς στην ογκολογική έρευνα για τη μελέτη των μοριακών μηχανισμών πολλαπλασιασμού του καρκίνου του μαστού και για τη δοκιμή θεραπευτικών στρατηγικών που στοχεύουν στους ορμονικούς υποδοχείς και το μονοπάτι HER2. Τα κύτταρα αυτά είναι ιδιαίτερα χρήσιμα για την εξέταση της αποτελεσματικότητας των θεραπειών που στοχεύουν στο HER2, όπως η τραστουζουμάμπη (Herceptin), και για τη διερεύνηση των μηχανισμών αντίστασης στις θεραπείες αυτές. Η κυτταρική σειρά έχει επίσης συμβάλει στην πρόοδο της κατανόησης του τρόπου με τον οποίο οι ορμονικοί χειρισμοί επηρεάζουν την ανάπτυξη και την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων, παρέχοντας πληροφορίες για πιθανές θεραπευτικές προσεγγίσεις για ορμονοεξαρτώμενους όγκους.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Μαστός, μαστικός αδένας
Disease	Διηθητικό καρκίνωμα του πόρου
Metastatic site	Πνευμονογαστρικός πόρος
Synonyms	Bt-474, BT474

Χαρακτηριστικά

Age	60 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Τα κύτταρα αναπτύσσονται σε συμπαγείς, αργά αναπτυσσόμενες πολυστρωματικές αποικίες που σπάνια γίνονται συνεχείς. Δεν σχηματίζεται συρρέουσα μονοστοιβάδα.

Κύτταρα BT-474 | 300131

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

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, Προϊόν συχνότητας φαινοτύπου: 0.0426
Tumorigenic	Ναι, σε γυμνά ποντίκια
Virus susceptibility	Ιός του όγκου του μαστού ποντικού (RIII-MuMTV)
MSI-status	Σταθερό (MSS)
Mutational profile	TP53 mut
Karyotype	Τρόπος λειτουργίας = 55, εύρος = 50 έως 112, διπολική μετατόπιση 58 - 59 και 100 σε μεταγενέστερα περάσματα με 3 χρωμοσώματα-δείκτες

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 10 μικρογραμμάρια/ml ινσουλίνης
Doubling time	60 έως 80 ώρες

Κύτταρα BT-474 | 300131

Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	2 x 10^4 κύτταρα/cm^2 θα αποδώσουν ένα σχεδόν συνεχές στρώμα σε περίπου 4 ημέρες.
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Σχεδόν 100% ανακτώμενα κύτταρα με >90% βιωσιμότητα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα BT-474 | 300131

Thawing and Culturing Cells	1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά. 2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια. 3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου. 4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα. 5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά. 6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης. 7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων. 8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα
Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα BT-474 | 300131

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.
HLA αλληλόμορφα	**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