Product sheet

BT-474 rakud | 300131

Üldine teave

Description	BT-474 on inimese rinnavähi rakuliin, mis on saadud 60-aastase naise ductus-kartsinoomist. See rakuliin on östrogeeni ja progesterooni retseptori suhtes positiivne, mis teeb sellest väärtusliku mudeli hormoonidele reageerivate rinnavähivormide uurimiseks. BT-474 rakke iseloomustab ka HER2/neu (inimese epidermise kasvufaktori retseptor 2) üleekspressioon, mis on amplifitseeritud ja mängib kriitilist rolli teatavate agressiivsete rinnavähi tüüpide patogeneesis ja progresseerumises. BT-474 rakuliini kasutatakse laialdaselt onkoloogilistes uuringutes rinnavähi proliferatsiooni molekulaarmehhanismide uurimiseks ja hormoonretseptoritele ja HER2-rada suunatud ravistrateegiate testimiseks. Need rakud on eriti kasulikud HER2-le suunatud ravimeetodite, nagu trastuzumab (Herceptin), tõhususe uurimiseks ja nende ravimeetodite suhtes resistentsuse mehhanismide uurimiseks. Rakuliin on aidanud kaasa ka arusaamisele, kuidas hormonaalsed manipulatsioonid mõjutavad vähirakkude kasvu ja ellujäämist, andes ülevaate hormoonsõltuvate kasvajate võimalikest ravimeetoditest.
Organism	Inimene
Tissue	Rind, rinnanäärme
Disease	Invasiivne ductus kartsinoom
Metastatic site	Ductal
Synonyms	Bt-474, BT474

Omadused

Age	60 aastat
Gender	Naised
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Epiteelilaadsed
Growth properties	Rakud kasvavad kompaktsete, aeglaselt kasvavate mitmekihiliste kolooniate kujul, mis harva muutuvad konfluentseks. Konfluentset monokihti ei moodustu.

Regulatiivsed andmed

Citation	BT-474 (Cytioni kataloginumber 300131)

Product sheet

BT-474 rakud | 300131

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0179

Biomolekulaarsed andmed

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, fenotüübi sageduse toode: 0.0426
Tumorigenic	Jah, alasti hiirtel
Virus susceptibility	Hiirte rinnanäärmekasvaja viirus (RIII-MuMTV)
MSI-status	Stabiilne (MSS)
Mutational profile	TP53 mut
Karyotype	Režiim = 55, vahemik = 50 kuni 112, bimodaalne nihe 58-59 ja 100 hilisemates lõigetes 3 marker-kromosoomi puhul

Töötlemine

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820400a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga, 10 mikrogrammi/ml insuliini
Doubling time	60-80 tundi
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

BT-474 rakud | 300131

Seeding density	2 x 10^4 rakku/cm^2 annab umbes 4 päeva jooksul enamasti konfluentse kihi.
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Peaaegu 100% taastunud rakkude elujõulisus >90%
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.
Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp. 4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga. 5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu. 8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub

BT-474 rakud | 300131

Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.
HLA alleles	**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