

BT-474-solut | 300131

Yleisiä tietoja

Description

BT-474 on ihmisen rintasyöpäsoluminjalinja, joka on peräisin 60-vuotiaan naisen duktaalikarsinoomasta. Tämä solulinjalinja on estrogeeni- ja progesteronireseptoriposiitivinen, mikä tekee siitä arvokkaan mallin hormonireagoivien rintasyöprien tutkimiseen. BT-474-soluille on ominaista myös HER2/neu:n (ihmisen epidermaalisen kasvutekijän reseptori 2) yliekspressio, joka on monistunut proteiini ja jolla on kriittinen rooli tiettyjen aggressiivisten rintasyöpätyyppien patogeneesissä ja etenemisessä.

BT-474-solulinjalinjaa käytetään laajalti onkologisessa tutkimuksessa rintasyövän proliferaation molekyylimekanismien tutkimiseen ja hormonireseptoreihin ja HER2-reittiin kohdistuviin terapeuttisiin strategioihin. Nämä solut ovat erityisen käyttökelpoisia tutkittaessa HER2:een kohdistettujen hoitojen, kuten trastutsumabin (Herceptin), tehoa ja tutkittaessa resistenssimekanismia näitä hoitoja vastaan. Solulinjalinja on myös edistänyt sen ymmärtämistä, miten hormonaaliset manipulaatiot vaikuttavat syöpäsolumien kasvuun ja eloonjäämiseen, mikä antaa tietoa mahdollisista hormoniriippuvaisten kasvainten hoitokeinoista.

Organism

Ihminen

Tissue

Rinta, rintarauhanen

Disease

Invasiivinen duktaalikarsinooma

Metastatic site

Ductal

Synonyms

Bt-474, BT474

Ominaisuudet

Age

60 vuotta

Gender

Nainen

Ethnicity

Kaukasialainen

Morphology

Epiteelin kaltainen

Growth properties

Solut kasvavat kompakteina, hitaasti kasvavina monikerroksisina pesäkkeinä, jotka vain harvoin tulevat juokseviksi. Juoksevaa monokerrosta ei muodostu.

Säätelytiedot

Citation

BT-474 (Cytionin luettelonumero 300131)

BT-474-solut | 300131

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0179**Biomolekyylitiedot****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, Fenotyypin frekvenssituote: 0.0426**Tumorigenic** Kyllä, alastomilla hiirillä**Virus susceptibility** Hiiren rintarauhaskasvainvirus (RIII-MuMTV)**MSI-status** Vakaa (MSS)**Mutational profile** TP53 mut**Karyotype** Moodi = 55, vaihteluväli = 50-112, bimodaalinen siirtymä 58-59 ja 100 myöhemmissä vaiheissa, joissa on 3 merkkikromosomia**Käsittely****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a)**Supplements** Lisätään väliaineeseen 10 % FBS, 10 mikrogrammaa/ml insuliinia**Doubling time** 60-80 tuntia**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

BT-474-solut | 300131

Seeding density 2×10^4 solua/cm² tuottaa noin 4 päivässä lähes yhtenäisen kerroksen.

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Lähes 100 % talteenotetuista soluista, joiden elinkelpoisuus on > 90 %

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

BT-474-solut | 300131

Flask Coating Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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