Product sheet

BT-474-solut | 300131

Yleisiä tietoja

Description	BT-474 on ihmisen rintasyöpäsolulinja, joka on peräisin 60-vuotiaan naisen duktaalikarsinoomasta. Tämä solulinja on estrogeeni- ja progesteronireseptoripositiivinen, mikä tekee siitä arvokkaan mallin hormonireagoivien rintasyöpien 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-solulinjaa 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 resistenssimekanismeja näitä hoitoja vastaan. Solulinja on myös edistänyt sen ymmärtämistä, miten hormonaaliset manipulaatiot vaikuttavat syöpäsolujen 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.

Sääntelytiedot

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 tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

BT-474-solut | 300131

Seeding density	2 x 10^4 solua/cm^2 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 syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, 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 mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle. 4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella 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 kuivajäässä 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 kuivajäässä 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 typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä 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