Product sheet

BT-474 sejtek | 300131

Általános információk

Description	A BT-474 egy emberi emlőrákos sejtvonal, amely egy 60 éves nő duktális karcinómájából származik. Ez a sejtvonal ösztrogén- és progeszteronreceptor-pozitív, így értékes modell a hormonérzékeny emlőrákok tanulmányozására. A BT-474 sejteket a HER2/neu (humán epidermális növekedési faktor receptor 2) túlreprezentációja is jellemzi, amely fehérje felerősödik, és kritikus szerepet játszik az emlőrák egyes agresszív típusainak patogenezisében és progressziójában. A BT-474 sejtvonalat széles körben használják az onkológiai kutatásokban az emlőrák proliferációjának molekuláris mechanizmusainak tanulmányozására és a hormonreceptorokat és a HER2 útvonalat célzó terápiás stratégiák tesztelésére. Ezek a sejtek különösen hasznosak a HER2 célzott terápiák, például a trastuzumab (Herceptin) hatékonyságának vizsgálatára, valamint az e kezelésekkel szembeni rezisztencia mechanizmusainak feltárására. A sejtvonal hozzájárult annak megértéséhez is, hogy a hormonális manipulációk hogyan befolyásolják a rákos sejtek növekedését és túlélését, betekintést nyújtva a hormonfüggő daganatok lehetséges kezelési módszereibe.
Organism	Emberi
Tissue	Mell, emlőmirigy
Disease	Invazív ductus carcinoma
Metastatic site	Ductus
Synonyms	Bt-474, BT474

Jellemzők

Age	60 év
Gender	Női
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Epithelszerű
Growth properties	A sejtek kompakt, lassan növekvő, többrétegű kolóniákban nőnek, amelyek ritkán válnak konfluenssé. Konfluens monoréteg nem alakul ki.

Szabályozási adatok

Citation	BT-474 (Cytion katalógusszám: 300131)

BT-474 sejtek | 300131

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0179

Biomolekuláris adatok

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, Phenotype Frequency Product: 0.0426
Tumorigenic	Igen, meztelen egerekben
Virus susceptibility	Egér emlőtumor-vírus (RIII-MuMTV)
MSI-status	Stabil (MSS)
Mutational profile	TP53 mut
Karyotype	Módusz = 55, tartomány = 50-112, bimodális eltolódás 58-59 és 100 a későbbi szakaszokban 3 marker kromoszómával

A kezelése

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion 820400a cikkszám)
Supplements	A táptalajt 10% FBS-szel, 10 mikrogramm/ml inzulinnal egészítsük ki
Doubling time	60-80 óra
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

BT-474 sejtek | 300131

Seeding density	2 x 10^4 sejt/cm^2 körülbelül 4 nap alatt többnyire összefolyó réteget eredményez.
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Post-Thaw Recovery	Majdnem 100%-ban visszanyert sejtek >90%-os életképességgel
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

BT-474 sejtek | 300131

Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.
HLA allélok	**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