**Product sheet**

# BT-474 ląstelės | 300131

## Bendra informacija

| | |
|---|---|
| **Description** | BT-474 yra žmogaus krūties vėžio ląstelių linija, gauta iš 60 metų moters latakinės karcinomos. Ši ląstelių linija turi teigiamus estrogenų ir progesterono receptorius, todėl yra vertingas modelis hormonams jautriam krūties vėžiui tirti. BT-474 ląstelėms taip pat būdinga pernelyg didelė HER2/neu (žmogaus epidermio augimo faktoriaus receptoriaus 2) - baltymo, kuris yra sustiprintas ir atlieka lemiamą vaidmenį tam tikrų agresyvių krūties vėžio tipų patogenezėje ir progresavime - ekspresija.<br><br>BT-474 ląstelių linija plačiai naudojama onkologiniuose tyrimuose tiriant krūties vėžio proliferacijos molekulinius mechanizmus ir bandant gydymo strategijas, nukreiptas prieš hormonų receptorius ir HER2 kelią. Šios ląstelės ypač naudingos tiriant į HER2 nukreiptų gydymo metodų, pavyzdžiui, trastuzumabo (Herceptin), veiksmingumą ir tiriant atsparumo šiems gydymo metodams mechanizmus. Ši ląstelių linija taip pat padėjo suprasti, kaip hormoninės manipuliacijos veikia vėžinių ląstelių augimą ir išgyvenamumą, todėl galima įžvelgti galimus nuo hormonų priklausomų navikų gydymo metodus. |
| **Organism** | Žmogus |
| **Tissue** | Krūtys, pieno liauka |
| **Disease** | Invazinė duktalinė karcinoma |
| **Metastatic site** | Duktalinis |
| **Synonyms** | Bt-474, BT474 |

## Charakteristikos

| | |
|---|---|
| **Age** | 60 metų |
| **Gender** | Moteris |
| **Ethnicity** | Kaukaziečių |
| **Morphology** | Į epitelį panašus |
| **Growth properties** | Ląstelės auga kompaktiškomis, lėtai augančiomis daugiasluoksnėmis kolonijomis, kurios retai būna susiliejančios. Nesusidaro susiliejantis monosluoksnis. |

## Reguliavimo duomenys

| | |
|---|---|
| **Citation** | BT-474 (Cytion katalogo numeris 300131) |

# BT-474 ląstelės | 300131

| | |
|---|---|
| **Biosafety level** | 1 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_0179 |

## Biomolekuliniai duomenys

| | |
|---|---|
| **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, Fenotipo dažnio produktas: 0.0426 |
| **Tumorigenic** | Taip, su nuogomis pelėmis |
| **Virus susceptibility** | Pelės pieno liaukų naviko virusas (RIII-MuMTV) |
| **MSI-status** | Stabilus (MSS) |
| **Mutational profile** | TP53 mutavimas |
| **Karyotype** | Režimas = 55, intervalas = 50-112, bimodalinis poslinkis 58-59 ir 100 vėlesniuose etapuose su 3 žymeklių chromosomomis |

## Tvarkymas

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820400a) |
| **Supplements** | Papildykite terpę 10 % FBS, 10 mikrogramų/ml insulino |
| **Doubling time** | 60-80 valandų |
| **Subculturing** | Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė. |

# BT-474 ląstelės | 300131

| | |
|---|---|
| **Seeding density** | 2 x $10^4$ ląstelės/$cm^2$ per maždaug 4 dienas sudarys beveik vientisą sluoksnį. |
| **Fluid renewal** | 2-3 kartus per savaitę |
| **Post-Thaw Recovery** | Beveik 100 % atkurtų ląstelių, kurių gyvybingumas >90 % |
| **Freeze medium** | Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas. |
| **Thawing and Culturing Cells** | 1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.<br>2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.<br>3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.<br>4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.<br>5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.<br>6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.<br>7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.<br>8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus. |
| **Incubation Atmosphere** | 37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje. |

## BT-474 ląstelės | 300131

| | |
|---|---|
| **Flask Coating** | Nėra |
| **Freezing Procedure** | Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą. |
| **Shipping Conditions** | Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą. |
| **Storage Conditions** | Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą. |

## Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.<br><br>Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos. |
| **HLA aleliai** | **A***: '01:01:01, '29:02:01<br>**B***: '07:02:01, '44:03:01<br>**C***: '07:02:01, '16:01:01<br>**DRB1***: '04:01, '15:01<br>**DQA1***: '01:02:01, '03:03:01<br>**DQB1***: '06:02:01<br>**DPB1***: '04:01:01G, '05:01:01G<br>**E**: '01:01:01, '01:03:02 |