Product sheet

BT-474 šūnas | 300131

Vispārīga informācija

Description	BT-474 ir cilvēka krūts vēža šūnu līnija, kas iegūta no 60 gadus vecas sievietes duktālās karcinomas. Šai šūnu līnijai ir pozitīvi estrogēnu un progesterona receptori, tāpēc tā ir vērtīgs modelis uz hormoniem reaģējoša krūts vēža izpētei. BT-474 šūnām ir raksturīga arī HER2/neu (cilvēka epidermālā augšanas faktora receptoru 2) - olbaltumvielas, kas ir pastiprināta un kurai ir būtiska nozīme dažu agresīvu krūts vēža veidu patoģenēzē un progresēšanā - hiperekspresija. BT-474 šūnu līniju plaši izmanto onkoloģiskajos pētījumos, lai pētītu krūts vēža proliferācijas molekulāros mehānismus un pārbaudītu terapeitiskās stratēģijas, kas vērstas pret hormonu receptoriem un HER2 ceļu. Šīs šūnas ir īpaši noderīgas, lai pārbaudītu HER2 mērķterapijas, piemēram, trastuzumaba (Herceptin), efektivitāti un izpētītu rezistences mehānismus pret šo terapiju. Šūnu līnija ir arī veicinājusi progresu izpratnē par to, kā hormonālās manipulācijas ietekmē vēža šūnu augšanu un izdzīvošanu, sniedzot ieskatu iespējamās hormonāli atkarīgo audzēju ārstēšanas pieejās.
Organism	Cilvēks
Tissue	Krūtis, piena dziedzeris
Disease	Invazīva duktālā karcinoma
Metastatic site	Duktāls
Synonyms	Bt-474, BT474

Raksturojums

Age	60 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Epitēlijveidīgs
Growth properties	Šūnas aug kompaktās, lēni augošās daudzslāņainās kolonijās, kas reti kļūst saplūstošas. Konfluents monoslānis neveidojas.

Normatīvie dati

Citation	BT-474 (Cytion kataloga numurs 300131)

BT-474 šūnas | 300131

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0179

Biomolekulārie dati

Receptors expressed	HER-2/NEU+, ER+, PR+
Isoenzymes	G6PD, B, PGM3, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 1, Fenotipu biežuma produkts: 0.0426
Tumorigenic	Jā, kailām pelēm
Virus susceptibility	Peles krūts audzēja vīruss (RIII-MuMTV)
MSI-status	Stabils (MSS)
Mutational profile	TP53 mutācija
Karyotype	Moduss = 55, diapazons = 50 līdz 112, bimodāla nobīde 58 - 59 un 100 vēlākajos piegājienos ar 3 marķieru hromosomām

Darbs ar

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS, 10 mikrogramiem/ml insulīna
Doubling time	60 līdz 80 stundas
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

BT-474 šūnas | 300131

Seeding density	2 x 10^4 šūnas/cm^2 veidos galvenokārt konfluentu slāni apmēram 4 dienu laikā.
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Post-Thaw Recovery	Gandrīz 100 % atgūto šūnu ar > 90 % dzīvotspēju
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.

BT-474 šūnas | 300131

Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.
HLA alēles	**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