Product sheet

BT-474-celler | 300131

Generell informasjon

Description	BT-474 er en human brystkreftcellelinje som stammer fra et duktalt karsinom fra en 60 år gammel kvinne. Denne cellelinjen er østrogen- og progesteronreseptorpositiv, noe som gjør den til en verdifull modell for studier av hormonresponsive brystkreftformer. BT-474-celler kjennetegnes også av overuttrykk av HER2/neu (human epidermal vekstfaktorreseptor 2), et protein som er amplifisert og spiller en kritisk rolle i patogenesen og utviklingen av visse aggressive typer brystkreft. BT-474-cellelinjen brukes i utstrakt grad i onkologisk forskning for å studere de molekylære mekanismene bak spredning av brystkreft og for å teste ut behandlingsstrategier rettet mot hormonreseptorer og HER2-banen. Disse cellene er spesielt nyttige for å undersøke effekten av HER2-målrettede behandlinger, som trastuzumab (Herceptin), og for å utforske mekanismer for resistens mot disse behandlingene. Cellelinjen har også bidratt til å øke forståelsen av hvordan hormonell manipulering påvirker kreftcellenes vekst og overlevelse, noe som gir innsikt i potensielle behandlingsmetoder for hormonavhengige svulster.
Organism	Menneskelig
Tissue	Bryst, brystkjertel
Disease	Invasivt duktalt karsinom
Metastatic site	Duktal
Synonyms	Bt-474, BT474

Kjennetegn

Age	60 år
Gender	Kvinne
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Cellene vokser i kompakte, langsomt voksende flerlagskolonier som sjelden blir konfluente. Det dannes ikke et konfluerende monolag.

Regulatoriske data

Citation	BT-474 (Cytion-katalognummer 300131)

BT-474-celler | 300131

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0179

Biomolekylære data

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, Fenotypefrekvensprodukt: 0.0426
Tumorigenic	Ja, i nakne mus
Virus susceptibility	Mamma-tumorvirus fra mus (RIII-MuMTV)
MSI-status	Stabil (MSS)
Mutational profile	TP53 mut
Karyotype	Modus = 55, intervall = 50 til 112, bimodalt skift 58 - 59 og 100 i senere passasjer med 3 markørkromosomer

Håndtering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikkelnummer 820400a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS, 10 mikrogram/mL insulin
Doubling time	60 til 80 timer
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:2 til 1:3 anbefales

BT-474-celler | 300131

Seeding density	2 x 10^4 celler/cm^2 vil gi et stort sett sammenhengende lag på omtrent 4 dager.
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
Post-Thaw Recovery	Nesten 100 % av cellene ble gjenvunnet med >90 % levedyktighet
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, befuktet atmosfære.
Flask Coating	Ingen

BT-474-celler | 300131

Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.
STR-profil	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 10,11 **D13S317**: 11 **D16S539**: 9, 11 **D5S818**: 11, 13 **D7S820**: 9, 12 **TH01**: 7 **TPOX**: 8 **vWA**: 15, 16 **D3S1358**: 17 **D21S11**: 28, 32.2 **D18S51**: 13, 18 **D8S1179**: 10, 12 **FGA**: 22, 25 **D1S1656**: 13, 15.3 **D2S1338**: 19 **D12S391**: 17, 18 **D19S433**: 14, 17

BT-474-celler | 300131

HLA-alleler	**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