

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, resuspend 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 10⁴ celler/cm² 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 kryoundusert 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 cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. 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 / Genetisk profil / HLA

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