Product sheet

Komórki BT-474 | 300131

Informacje ogólne

Description	BT-474 to ludzka linia komórkowa raka piersi, pochodząca z raka przewodowego 60-letniej kobiety. Ta linia komórkowa jest dodatnia pod względem receptorów estrogenowych i progesteronowych, co czyni ją cennym modelem do badania hormonozależnych nowotworów piersi. Komórki BT-474 charakteryzują się również nadekspresją HER2/neu (receptor 2 ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu), białka, które ulega amplifikacji i odgrywa kluczową rolę w patogenezie i progresji niektórych agresywnych typów raka piersi. Linia komórkowa BT-474 jest szeroko stosowana w badaniach onkologicznych do badania molekularnych mechanizmów proliferacji raka piersi i testowania strategii terapeutycznych ukierunkowanych na receptory hormonalne i szlak HER2. Komórki te są szczególnie przydatne do badania skuteczności terapii ukierunkowanych na HER2, takich jak trastuzumab (Herceptin), oraz do badania mechanizmów oporności na te terapie. Linia komórkowa przyczyniła się również do postępów w zrozumieniu, w jaki sposób manipulacje hormonalne wpływają na wzrost i przeżycie komórek nowotworowych, zapewniając wgląd w potencjalne metody leczenia nowotworów hormonozależnych.
Organism	Człowiek
Tissue	Piersi, gruczoł sutkowy
Disease	Inwazyjny rak przewodowy
Metastatic site	Kanałowy
Synonyms	Bt-474, BT474

Charakterystyka

Age	60 lat
Gender	Kobieta
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Podobny do nabłonka
Growth properties	Komórki rosną w zwartych, wolno rosnących wielowarstwowych koloniach, które rzadko stają się konfluentne. Nie tworzy się zwarta monowarstwa.

Dane regulacyjne

Citation	BT-474 (numer katalogowy Cytion 300131)

Product sheet

Komórki BT-474 | 300131

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0179

Dane biomolekularne

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, Fenotyp Częstość Produkt: 0.0426
Tumorigenic	Tak, u nagich myszy
Virus susceptibility	Wirus nowotworu sutka myszy (RIII-MuMTV)
MSI-status	Stabilny (MSS)
Mutational profile	TP53 mut
Karyotype	Tryb = 55, zakres = 50 do 112, bimodalne przesunięcie 58-59 i 100 w późniejszych pasażach z 3 chromosomami markerowymi

Obsługa

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820400a)
Supplements	Uzupełnić pożywkę 10% FBS, 10 mikrogramów/ml insuliny
Doubling time	60 do 80 godzin
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Komórki BT-474 | 300131

Split ratio	Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:3
Seeding density	2 x 10^4 komórek/cm^2 da w większości zlewającą się warstwę w ciągu około 4 dni.
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Prawie 100% odzyskanych komórek o żywotności >90%
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.

2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.

3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.

4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.

7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.

8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Komórki BT-474 | 300131

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak
Freezing Procedure	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Komórki BT-474 | 300131

Profil STR	**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
Allele HLA	**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