Product sheet

BT-474-celler | 300131

Allmän information

Description	BT-474 är en human bröstcancercellinje som härrör från ett duktalt karcinom hos en 60-årig kvinna. Denna cellinje är östrogen- och progesteronreceptorpositiv, vilket gör den till en värdefull modell för studier av hormonresponsiva bröstcancerformer. BT-474-cellerna kännetecknas också av överuttryck av HER2/neu (human epidermal growth factor receptor 2), ett protein som är förstärkt och spelar en avgörande roll i patogenesen och utvecklingen av vissa aggressiva typer av bröstcancer. BT-474-cellinjen används i stor utsträckning inom onkologisk forskning för att studera de molekylära mekanismerna bakom bröstcancerspridning och för att testa terapeutiska strategier inriktade på hormonreceptorer och HER2-vägen. Dessa celler är särskilt användbara för att undersöka effekten av HER2-riktade behandlingar, som trastuzumab (Herceptin), och för att utforska mekanismerna bakom resistens mot dessa behandlingar. Cellinjen har också bidragit till att öka förståelsen för hur hormonella manipulationer påverkar cancercellers tillväxt och överlevnad, vilket ger insikter om potentiella behandlingsmetoder för hormonberoende tumörer.
Organism	Människan
Tissue	Bröst, bröstkörtel
Disease	Invasivt duktalt karcinom
Metastatic site	Duktal
Synonyms	Bt-474, BT474

Egenskaper

Age	60 år
Gender	Kvinna
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitelliknande
Growth properties	Cellerna växer i kompakta, långsamt växande kolonier i flera skikt som sällan blir sammanflytande. Ett sammanflytande monolager bildas inte.

Lagstadgade uppgifter

Citation	BT-474 (Cytion katalognummer 300131)

BT-474-celler | 300131

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0179

Biomolekylära data

Receptors expressed	HENNE-2/NEU+, ER+, PR+
Isoenzymes	G6PD, B, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 1, Fenotyp Frekvens Produkt: 0.0426
Tumorigenic	Ja, i nakna möss
Virus susceptibility	Musens brösttumörvirus (RIII-MuMTV)
MSI-status	Stabilt (MSS)
Mutational profile	TP53 mut
Karyotype	Läge = 55, intervall = 50 till 112, bimodal förändring 58 - 59 och 100 i senare avsnitt med 3 markörkromosomer

Hantering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukos, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS, 10 mikrogram/mL insulin
Doubling time	60 till 80 timmar
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
Split ratio	Ett förhållande på 1:2 till 1:3 rekommenderas

BT-474-celler | 300131

Seeding density	2 x 10^4 celler/cm^2 ger ett nästan helt sammanväxt lager på cirka 4 dagar.
Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka
Post-Thaw Recovery	Nästan 100% återvunna celler med >90% viabilitet
Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befuktad atmosfär.

BT-474-celler | 300131

Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.
Shipping Conditions	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.
Storage Conditions	För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

Sterility	Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.
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