Product sheet

Bunky BT-474 | 300131

Všeobecné informácie

Description	BT-474 je ľudská bunková línia karcinómu prsníka odvodená z duktálneho karcinómu 60-ročnej ženy. Táto bunková línia je pozitívna na estrogénové a progesterónové receptory, čo z nej robí cenný model na štúdium rakoviny prsníka reagujúcej na hormóny. Bunky BT-474 sa vyznačujú aj nadmernou expresiou HER2/neu (ľudský receptor pre epidermálny rastový faktor 2), proteínu, ktorý je amplifikovaný a hrá rozhodujúcu úlohu v patogenéze a progresii niektorých agresívnych typov rakoviny prsníka. Bunková línia BT-474 sa vo veľkej miere používa v onkologickom výskume na štúdium molekulárnych mechanizmov proliferácie rakoviny prsníka a na testovanie terapeutických stratégií zameraných na hormonálne receptory a dráhu HER2. Tieto bunky sú obzvlášť užitočné na skúmanie účinnosti terapií zameraných na HER2, ako je trastuzumab (Herceptin), a na skúmanie mechanizmov rezistencie na tieto terapie. Bunková línia tiež prispela k pokroku v chápaní toho, ako hormonálne manipulácie ovplyvňujú rast a prežívanie rakovinových buniek, čo poskytuje poznatky o potenciálnych prístupoch k liečbe nádorov závislých od hormónov.
Organism	Ľudské
Tissue	Prsia, mliečna žľaza
Disease	Invazívny duktálny karcinóm
Metastatic site	Duktálny
Synonyms	Bt-474, BT474

Charakteristika

Age	60 rokov
Gender	Ženy
Ethnicity	Kaukazský
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Bunky rastú v kompaktných, pomaly rastúcich viacvrstvových kolóniách, ktoré sa zriedkavo stávajú splývavými. Nevytvára sa splývavá monovrstva.

Regulačné údaje

Citation	BT-474 (katalógové číslo Cytion 300131)

Bunky BT-474 | 300131

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0179

Biomolekulárne údaje

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, Produkt frekvencie fenotypu: 0.0426
Tumorigenic	Áno, na nahých myšiach
Virus susceptibility	Vírus nádorov mliečnej žľazy myší (RIII-MuMTV)
MSI-status	Stabilný (MSS)
Mutational profile	Mutácia TP53
Karyotype	Mód = 55, rozsah = 50 až 112, bimodálny posun 58 - 59 a 100 v neskorších pasážach s 3 markerovými chromozómami

Spracovanie

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO3 (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS, 10 mikrogramov/ml inzulínu
Doubling time	60 až 80 hodín
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Bunky BT-474 | 300131

Seeding density	2 x 10^4 buniek/cm^2 vytvorí približne za 4 dni väčšinou konfluentnú vrstvu.
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
Post-Thaw Recovery	Takmer 100 % obnovených buniek s > 90 % životaschopnosťou
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.
Thawing and Culturing Cells	1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota. 2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia. 3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč. 4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom. 5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte. 6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média. 7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek. 8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.

Bunky BT-474 | 300131

Flask Coating	Žiadne
Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.
Alely 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