**Product sheet**

# Клітини BT-474 | 300131

## Загальна інформація

| | |
|---|---|
| **Description** | BT-474 - це клітинна лінія раку молочної залози людини, отримана з протокової карциноми 60-річної жінки. Ця клітинна лінія позитивна до рецепторів естрогену і прогестерону, що робить її цінною моделлю для вивчення гормоночутливих форм раку молочної залози. Клітини BT-474 також характеризуються надмірною експресією HER2/neu (рецептор епідермального фактору росту людини 2) - білка, який посилено експресується і відіграє критичну роль у патогенезі та прогресуванні деяких агресивних типів раку молочної залози.<br><br>Клітинна лінія BT-474 широко використовується в онкологічних дослідженнях для вивчення молекулярних механізмів проліферації раку молочної залози та тестування терапевтичних стратегій, спрямованих на гормональні рецептори та шлях HER2. Ці клітини особливо корисні для вивчення ефективності HER2-орієнтованої терапії, такої як трастузумаб (Герцептин), а також для дослідження механізмів резистентності до цих методів лікування. Клітинна лінія також сприяла прогресу в розумінні того, як гормональні маніпуляції впливають на ріст і виживання ракових клітин, надаючи уявлення про потенційні підходи до лікування гормонозалежних пухлин. |
| **Organism** | Людина |
| **Tissue** | Груди, молочна залоза |
| **Disease** | Інвазивна протокова карцинома |
| **Metastatic site** | Повітропровід |
| **Synonyms** | Bt-474, BT474 |

## Характеристики

| | |
|---|---|
| **Age** | 60 років |
| **Gender** | Жінка |
| **Ethnicity** | Кавказець |
| **Morphology** | Епітеліальноподібні |
| **Growth properties** | Клітини ростуть компактними, повільно зростаючими багатошаровими колоніями, які рідко зливаються. Злитий моношар не утворюється. |

## Нормативні дані

# Клітини BT-474 | 300131

| | |
|---|---|
| **Citation** | BT-474 (каталожний номер 300131) |
| **Biosafety level** | 1 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_0179 |

## Біомолекулярні дані

| | |
|---|---|
| **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, Продукт частоти фенотипу: 0.0426 |
| **Tumorigenic** | Так, у голих мишей |
| **Virus susceptibility** | Вірус пухлини молочної залози мишей (RIII-MuMTV) |
| **MSI-status** | Стабільний (MSS) |
| **Mutational profile** | TP53 мут |
| **Karyotype** | Мода = 55, діапазон = 50-112, бімодальний зсув 58-59 і 100 в пізніх пасажах з 3 маркерними хромосомами |

## Обробка

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 г/л Глюкоза, w: 2,5 мМ L-глутамін, w: 15 мМ HEPES, w: 0,5 мМ Піруват натрію, w: 1,2 г/л NaHCO3 (цит. номер 820400a) |
| **Supplements** | Додайте до середовища 10% FBS, 10 мкг/мл інсуліну |
| **Doubling time** | від 60 до 80 годин |

## Клітини BT-474 | 300131

| | |
|---|---|
| **Subculturing** | Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище. |
| **Seeding density** | 2 x $10^4$ клітин/$^{см2}$ дадуть в основному злитий шар приблизно за 4 дні |
| **Fluid renewal** | 2-3 рази на тиждень |
| **Post-Thaw Recovery** | Майже 100% відновлених клітин при >90% життєздатності |
| **Freeze medium** | Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу. |

## Клітини BT-474 | 300131

| | |
|---|---|
| **Thawing and Culturing Cells** | 1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.<br>2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.<br>3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.<br>4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.<br>5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.<br>6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.<br>7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.<br>8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту. |
| **Incubation Atmosphere** | 37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера. |
| **Flask Coating** | Ні |
| **Freezing Procedure** | Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання. |

## Клітини BT-474 | 300131

| | |
|---|---|
| **Shipping Conditions** | Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання. |
| **Storage Conditions** | Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот. |

## Контроль якості та молекулярний аналіз

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.<br><br>Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю. |
| **HLA алелі** | **A***: '01:01:01, '29:02:01<br>**B***: '07:02:01, '44:03:01<br>**C***: '07:02:01, '16:01:01<br>**DRB1***: '04:01, '15:01<br>**DQA1***: '01:02:01, '03:03:01<br>**DQB1***: '06:02:01<br>**DPB1***: '04:01:01G, '05:01:01G<br>**E**: '01:01:01, '01:03:02 |