

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 ампліфікується і відіграє критичну роль у патогенезі та прогресуванні деяких агресивних типів раку молочної залози.

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 багаточисельними 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 акутазою, 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 2×10^4 клітин/ cm^2 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.
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.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши 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.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
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.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній 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 перевірній 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.

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 / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

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