Product sheet

Cellules BT-474 | 300131

Informations générales

Description	BT-474 est une lignée cellulaire humaine de cancer du sein, dérivée du carcinome canalaire d'une femme de 60 ans. Cette lignée cellulaire est positive aux récepteurs d'œstrogène et de progestérone, ce qui en fait un modèle précieux pour l'étude des cancers du sein répondant aux hormones. Les cellules BT-474 se caractérisent également par la surexpression de HER2/neu (récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain), une protéine amplifiée qui joue un rôle essentiel dans la pathogenèse et la progression de certains types agressifs de cancer du sein. La lignée cellulaire BT-474 est largement utilisée en recherche oncologique pour étudier les mécanismes moléculaires de la prolifération du cancer du sein et pour tester des stratégies thérapeutiques ciblant les récepteurs hormonaux et la voie HER2. Ces cellules sont particulièrement utiles pour examiner l'efficacité des thérapies ciblant HER2, telles que le trastuzumab (Herceptin), et pour explorer les mécanismes de résistance à ces traitements. La lignée cellulaire a également contribué à des avancées dans la compréhension de la manière dont les manipulations hormonales affectent la croissance et la survie des cellules cancéreuses, ce qui permet d'envisager des approches thérapeutiques potentielles pour les tumeurs hormono-dépendantes.
Organism	Humain
Tissue	Sein, glande mammaire
Disease	Carcinome canalaire invasif
Metastatic site	Ductal
Synonyms	Bt-474, BT474

Caractéristiques

Age	60 ans
Gender	Femme
Ethnicity	Caucasien
Morphology	De type épithélial
Growth properties	Les cellules se développent en colonies multicouches compactes, à croissance lente, qui deviennent rarement confluentes. Il n'y a pas de monocouche confluente.

Données réglementaires

Cellules BT-474 | 300131

Citation	BT-474 (numéro de catalogue Cytion 300131)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0179

Données biomoléculaires

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, Fréquence du phénotype Produit : 0.0426
Tumorigenic	Oui, sur des souris nues
Virus susceptibility	Virus de la tumeur mammaire de la souris (RIII-MuMTV)
MSI-status	Stable (MSS)
Mutational profile	TP53 mut
Karyotype	Mode = 55, intervalle = 50 à 112, décalage bimodal 58 - 59 et 100 dans les passages ultérieurs avec 3 chromosomes marqueurs

Manipulation

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w : 3.1 g/L Glucose, w : 2.5 mM L-Glutamine, w : 15 mM HEPES, w : 0.5 mM Sodium pyruvate, w : 1.2 g/L NaHCO3 (numéro d'article Cytion 820400a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10 % de FBS, 10 microgrammes/ml d'insuline
Doubling time	60 à 80 heures

Cellules BT-474 | 300131

Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Split ratio	Un rapport de 1:2 à 1:3 est recommandé
Seeding density	2 x 10^4 cellules/cm^2 donneront une couche presque confluente en environ 4 jours.
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Près de 100 % des cellules récupérées ont une viabilité supérieure à 90 %
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Cellules BT-474 | 300131

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.

4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.

8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.
Flask Coating	Aucun
Freezing Procedure	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules BT-474 | 300131

Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence. Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.
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
Allèles 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