Product sheet

Cellule BT-474 | 300131

Informazioni generali

Description	BT-474 è una linea cellulare di cancro al seno umano, derivata dal carcinoma duttale di una donna di 60 anni. Questa linea cellulare è positiva ai recettori per gli estrogeni e il progesterone, il che la rende un modello prezioso per lo studio dei tumori al seno ormono-responsivi. Le cellule BT-474 sono inoltre caratterizzate dalla sovraespressione di HER2/neu (recettore 2 del fattore di crescita epidermico umano), una proteina amplificata che svolge un ruolo critico nella patogenesi e nella progressione di alcuni tipi aggressivi di cancro al seno. La linea cellulare BT-474 è ampiamente utilizzata nella ricerca oncologica per studiare i meccanismi molecolari della proliferazione del tumore al seno e per testare strategie terapeutiche mirate ai recettori ormonali e alla via di HER2. Queste cellule sono particolarmente utili per esaminare l'efficacia delle terapie mirate a HER2, come il trastuzumab (Herceptin), e per esplorare i meccanismi di resistenza a questi trattamenti. La linea cellulare ha anche contribuito a far capire come le manipolazioni ormonali influenzino la crescita e la sopravvivenza delle cellule tumorali, fornendo spunti per potenziali approcci terapeutici per i tumori ormono-dipendenti.
Organism	Umano
Tissue	Seno, ghiandola mammaria
Disease	Carcinoma duttale invasivo
Metastatic site	Duttale
Synonyms	Bt-474, BT474

Caratteristiche

Age	60 anni
Gender	Donna
Ethnicity	Caucasico
Morphology	Simile all'epitelio
Growth properties	Le cellule crescono in colonie multistrato compatte, a crescita lenta, che raramente diventano confluenti. Non si forma un monostrato confluente.

Dati normativi

Citation	BT-474 (numero di catalogo Cytion 300131)

Cellule BT-474 | 300131

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0179

Dati biomolecolari

Receptors expressed	LEI-2/NEU+, ER+, PR+
Isoenzymes	G6PD, B, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 1, Prodotto di frequenza del fenotipo: 0.0426
Tumorigenic	Sì, in topi nudi
Virus susceptibility	Virus del tumore mammario del topo (RIII-MuMTV)
MSI-status	Stabile (MSS)
Mutational profile	TP53 mut
Karyotype	Modalità = 55, range = 50-112, spostamento bimodale 58-59 e 100 nei passaggi successivi con 3 cromosomi marker

Manipolazione

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 2,5 mM di L-Glutammina, w: 15 mM di HEPES, w: 0,5 mM di Sodio piruvato, w: 1,2 g/L di NaHCO3 (articolo Cytion numero 820400a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 10 microgrammi/mL di insulina
Doubling time	da 60 a 80 ore
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Cellule BT-474 | 300131

Split ratio	Si consiglia un rapporto da 1:2 a 1:3
Seeding density	2 x 10^4 cellule/cm^2 produrranno uno strato prevalentemente confluente in circa 4 giorni.
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
Post-Thaw Recovery	Quasi il 100% delle cellule recuperate con una vitalità >90%
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Cellule BT-474 | 300131

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.
Flask Coating	Nessuno
Freezing Procedure	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Shipping Conditions	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility	La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza. Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Cellule BT-474 | 300131

Profilo 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
Alleli 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