Product sheet

Células BT-474 | 300131

Informações gerais

Description	BT-474 é uma linha celular de cancro da mama humano, derivada do carcinoma ductal de uma mulher de 60 anos. Esta linha celular é positiva para os receptores de estrogénio e progesterona, o que a torna um modelo valioso para o estudo dos cancros da mama responsivos às hormonas. As células BT-474 também se caracterizam pela sobreexpressão de HER2/neu (recetor 2 do fator de crescimento epidérmico humano), uma proteína que é amplificada e desempenha um papel crítico na patogénese e progressão de certos tipos agressivos de cancro da mama. A linha celular BT-474 é amplamente utilizada na investigação oncológica para estudar os mecanismos moleculares da proliferação do cancro da mama e para testar estratégias terapêuticas que visam os receptores hormonais e a via HER2. Estas células são particularmente úteis para examinar a eficácia das terapias orientadas para o HER2, como o trastuzumab (Herceptin), e para explorar os mecanismos de resistência a estes tratamentos. A linha celular também contribuiu para os avanços na compreensão da forma como as manipulações hormonais afectam o crescimento e a sobrevivência das células cancerígenas, fornecendo informações sobre potenciais abordagens de tratamento para tumores dependentes de hormonas.
Organism	Humano
Tissue	Mama, glândula mamária
Disease	Carcinoma ductal invasivo
Metastatic site	Ductal
Synonyms	Bt-474, BT474

Caraterísticas

Age	60 anos
Gender	Feminino
Ethnicity	Caucasiano
Morphology	De tipo epitelial
Growth properties	As células crescem em colónias compactas, de crescimento lento e com várias camadas, que raramente se tornam confluentes. Não se forma uma monocamada confluente.

Dados regulamentares

Células BT-474 | 300131

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

Dados biomoleculares

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, Produto de frequência fenotípica: 0.0426
Tumorigenic	Sim, em ratinhos nus
Virus susceptibility	Vírus do tumor mamário do ratinho (RIII-MuMTV)
MSI-status	Estável (MSS)
Mutational profile	TP53 mut
Karyotype	Modo = 55, intervalo = 50 a 112, desvio bimodal 58 - 59 e 100 em passagens posteriores com 3 cromossomas marcadores

Manuseamento

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO3 (número de artigo Cytion 820400a)
Supplements	Suplementar o meio com 10% de FBS, 10 microgramas/mL de insulina
Doubling time	60 a 80 horas

Células BT-474 | 300131

Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Seeding density	2 x 10^4 células/cm^2 produzirão uma camada quase confluente em cerca de 4 dias.
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Post-Thaw Recovery	Quase 100% de células recuperadas com viabilidade >90%
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células BT-474 | 300131

Thawing and Culturing Cells	1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte. 2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata. 3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo. 4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir. 5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente. 6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual. 7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células. 8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.
Flask Coating	Nenhum
Freezing Procedure	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células BT-474 | 300131

Shipping Conditions	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility	A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.
Alelos 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