

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 em termos de receptores de estrogénio e progesterona, o que a torna um modelo valioso para o estudo de cancros da mama responsivos a hormonas. As células BT-474 também se caracterizam pela sobreexpressão de HER2/neu (receptor 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 confluyente.

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 2×10^4 células/cm² produzirão uma camada quase confluyente 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 otimizados 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, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado 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 $300 \times g$ 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% CO_2 , 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 / Perfil genético / HLA

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