Product sheet

Cellules BT-474 | 300131

Renseignements généraux

Description	La BT-474 est une lignée cellulaire de cancer du sein humain, 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 hormono-sensibles. Les cellules BT-474 se caractérisent également par la surexpression de HER2/neu (récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain), une protéine dont l'amplification joue un rôle crucial 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 évaluer l'efficacité des thérapies ciblant HER2, comme le trastuzumab (Herceptin), et pour explorer les mécanismes de résistance à ces traitements. La lignée cellulaire a également contribué à faire progresser la compréhension de la façon dont les manipulations hormonales affectent la croissance et la survie des cellules cancéreuses, fournissant ainsi des indications sur des approches thérapeutiques potentielles pour les tumeurs hormono-dépendantes.
Organism	Humain
Tissue	Sein, glande mammaire
Disease	Carcinome canalaire invasif
Metastatic site	Canaliculaire
Synonyms	Bt-474, BT474

Caractéristiques

Age	60 ans
Gender	Femme
Ethnicity	caucasien
Morphology	De type épithélial
Growth properties	Les cellules se développent en colonies compactes, multicouches, à croissance lente, qui atteignent rarement la confluence. Il ne se forme 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, produit de la fréquence phénotypique : 0,0426
Tumorigenic	Oui, chez les souris nues
Virus susceptibility	Virus de la tumeur mammaire de la souris (RIII-MuMTV)
MSI-status	Stable (MSS)
Mutational profile	mutation du gène TP53
Karyotype	Mode = 55, intervalle = de 50 à 112, décalage bimodal de 58 à 59 et de 100 dans les passages ultérieurs avec 3 chromosomes marqueurs

Manipulation

Culture Medium	DMEM : F12 de Ham (1:1), p/v : 3,1 g/L de glucose, p/v : 2,5 mM de L-glutamine, p/v : 15 mM d'HEPES, 0,5 mM de pyruvate de sodium, 1,2 g/L de $NaHCO_3$ (référence Cytion 820400a)
Supplements	Ajouter au milieu 10 % de FBS et 10 microgrammes/mL d'insuline
Doubling time	de 60 à 80 heures

Cellules BT-474 | 300131

Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Seeding density	2×10^4 cellules/cm^2 permettront d'obtenir une couche pratiquement confluente en environ 4 jours
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Près de 100 % de cellules récupérées présentant une viabilité supérieure à 90 %
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules BT-474 | 300131

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.

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

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

5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

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

8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la 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 par luminescence.

Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.