

Клетки T47D | 300353

Обща информация

Description

Клетъчната линия T47D, произхождаща от плевралния излив на инфилтриращ дуктален карцином на гърдата, се превърна в критичен ресурс за изследване на рака на гърдата. Клетките T-47D са уникални в областта на изследванията на рака поради своя профил на хормонална експресия, по-специално поради наличието на рецептори за 17 бета естрадиол, различни други стероиди и калцитонин. Освен това клетките T47D експресират онкогена WNT7B.

Клетките T47D се отличават с това, че експресията на прогестеронови рецептор не се регулира от естрадиол, въпреки че хормонът е в изобилие в клетките, което ги отличава от клетките MCF7, които са широко известни с положителния си естрогенов рецептор и често се използват за изследване на ролята на естрогена в туморната пролиферация и отговора на терапиите.

Полезността на клетъчната линия T47D се разпростира върху формирането на ксенографи в имунодефицитни мишки, които са ценни за тестване на лекарства, наблюдение на промените в рецепторния статус и изучаване на ангиогенезата.

Освен това клетъчната линия T-47D е източник на информация за проучвания на раковите гени, което дава представа за геномния и протеомния ландшафт, обуславящ рака на гърдата. Като улеснява по-дълбокото разбиране на протеомните и транскриптомните профили на рака на гърдата, клетъчната линия t47d подпомага идентифицирането на нови фенотипове на клетките на рака на гърдата и разработването на целеви терапии.

Клетките T47D са от съществено значение за изучаване на ефектите на хормони като прогестерон върху рака на гърдата, като предлагат прозрения за транскрипционната регулация, лекарствената резистентност и разработването на ксенографт модели за терапевтично тестване.

Organism Човек

Tissue Гърди

Disease Инвазивен дуктален карцином

Metastatic site Плеврален излив

Synonyms T-47-D, T47-D, T47D:A, T47D

Характеристики

Age 54 години

Gender Жена

Ethnicity Кавказки

Клетки T47D | 300353

Morphology Подобни на епител

Growth properties Монослой, прилепнал

Регулаторни данни

Citation T47D (каталожен номер 300353 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0553

Биомолекулярни данни

Receptors expressed Естрадиол, стероиди, калцитонин, андроген, прогестерон, глюкокортикоид, пролактин, естроген

Isoenzymes G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 2, Ak-1, 1, GLO-1, 1-2

Oncogenes Wnt3 +, wnt7h +, wnt7b+

Tumorigenic Да, при голи мишки

Mutational profile Мутация на TP53

Karyotype Режим = 66, дицентрични и изключително дълги субметацентрични хромозоми

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS, 10 микрограма/ml HREC инсулин

Dissociation Reagent Accutase

Клетки T47D | 300353

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1×10^4 клетки/cm ²
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm ² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки T47D | 300353

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки T47D | 300353

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

A*: '33:01:01
B*: '14:02:01
C*: '08:02:01
DRB1*: '01:02:01
DQA1*: '01:01:02
DQB1*: '05:01:01
DPB1*: '02:01:02, '04:01:01
E: '01:01:01