

T47D rakud | 300353

Üldine teave

Description

T47D rakuliinist, mis pärineb rinnavähi infiltreruva duktaalse kartsinoomi pleuraefusioonist, on saanud kriitiline ressurss rinnavähi uurimisel. T-47D rakud on vähiuuringutes ainulaadsed oma hormonaalse ekspresiooniprofiili poolest, eelkõige 17-beeta-östradioli, mitmesuguste teiste steroidide ja kaltsitoniini retseptorite poolest. Lisaks sellele ekspresseerivad T47D rakud WNT7B onkogeeni.

T47D rakud paistavad silma selle poolest, et nende progesteronireseptori ekspressiooni ei reguleeri östradiol, vaatamata hormooni rohkusele rakkudes, mis eristab neid MCF7 rakkudest, mis on laialdaselt tuntud oma östrogeeni retseptori positiivsuse poolest ja mida kasutatakse sageli östrogeeni rolli uurimiseks kasvaja proliferatsioonis ja ravivastuses.

T47D rakuliini kasulikkus ulatub ksenotransplantaatide moodustamiseni immuunpuudulikkusega hiirtel, mis on väärtuslikud ravimite testimiseks, retseptori staatuse muutuste jälgimiseks ja angiogeneesi uurimiseks.

Lisaks sellele on T-47D rakuliin ressurss vähi geenide uurimiseks, mis annab ülevaate rinnanäärmevähi põhjustavast genoomilisest ja proteoomilisest maastikust. Rinnavähi proteoomilise ja transkriptoomilise profiili sügavamast mõistmist hõlbustades aitab T47D rinnavähi rakuliin kaasa uute rinnavähi rakkude fenotüüpide tuvastamisele ja sihtotstarbeliste ravimeetodite väljatöötamisele.

T47D rakud on aidanud uurida hormoonide, nagu progesteron, mõju rinnavähile, andes ülevaate transkriptsiooni regulatsioonist, ravimiresistentsusest ja ksenotransplantaadi mudelite väljatöötamisest ravikatsede tegemiseks.

Organism Inimene

Tissue Rind

Disease Invasiivne ductus kartsinoom

Metastatic site Pleuraefusioon

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

Omadused

Age 54 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteelilaadsed

T47D rakud | 300353

Growth properties Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

Citation T47D (Cytioni katalooginumber 300353)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0553

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed Östradiool, steroidid, kaltsitoniin, androgeen, progesteroon, glükokortikoid, prolaktiin, östrogeen

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

Oncogenes Wnt3 +, wnt7h +, wnt7b+

Tumorigenic Jah, alasti hiirtel

Mutational profile TP53 mut

Karyotype Režiim = 66, ditsentrilised ja eriti pikad submetatsentrilised kromosoomid

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS, 10 mikrogrammi/ml HREC insuliini

Dissociation Reagent Accutase

T47D rakud | 300353

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 1×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

T47D rakud | 300353

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekekkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

T47D rakud | 300353

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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