

T47D sejtek | 300353

Általános információk

Description

A T47D sejtvonal, amely az emlő infiltráló duktális karcinómájának pleurális folyadékából származik, az emlőrák kutatásának kritikus forrásává vált. A T-47D sejtek egyedülállóak a rákkutatásban hormonális expressziós profiljuk miatt, különösen a 17 béta-ösztadiol, különböző más szteroidok és a kalcitonin receptorainak hordozói miatt. A T47D sejtek emellett a WNT7B onkogént is expresszálják.

A T47D sejtek figyelemre méltóak a progeszteronreceptor expressziójuk miatt, amelyet az ösztadiol nem szabályoz, annak ellenére, hogy a hormon nagy mennyiségben van jelen a sejtekben, ami megkülönbözteti őket az MCF7 sejtektől, amelyek széles körben ismertek ösztrogénreceptor-pozitivitásuk miatt, és amelyeket gyakran használnak az ösztrogénnek a tumorproliferációban és a terápiákra adott válaszban játszott szerepének vizsgálatára.

A T47D sejtvonal hasznossága kiterjed az immunhiányos egerekben történő xenograftok kialakítására, amelyek értékesek a gyógyszerek teszteléséhez, a receptorstátusz változásainak megfigyeléséhez és az angiogenesis tanulmányozásához.

A T-47D sejtvonal továbbá a rákgének tanulmányozásának forrása, amely betekintést nyújt az emlőrákot mozgató genomikai és proteomikai tájképbe. Az emlőrák proteomikai és transzkriptomikai profiljának mélyebb megértését elősegítve a t47d emlőrák-sejtvonal segít az emlőrák új sejtfenotípusainak azonosításában és a célzott terápiák kifejlesztésében.

A T47D sejtek fontos szerepet játszottak a hormonok, például a progeszteron emlőrákra gyakorolt hatásának tanulmányozásában, betekintést nyújtva a transzkripciós szabályozásba, a gyógyszerrezisztenciába és a terápiás tesztelésre szolgáló xenograft modellek kifejlesztésébe.

Organism Emberi

Tissue Mell

Disease Invazív ductus carcinoma

Metastatic site Mellhártya folyadékgyülem

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

Jellemzők

Age 54 év

Gender Női

Ethnicity Kaukázusi

T47D sejtek | 300353

Morphology Epithelszerű

Growth properties Monoréteg, tapadó

Szabályozási adatok

Citation T47D (Cytion katalógusszám: 300353)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0553

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed Ösztradiol, szteroidok, kalcitonin, androgén, progeszteron, glükokortikoid, prolaktin, ösztrogén, ösztrogén

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

Oncogenes Wnt3 +, wnt7h +, wnt7b+, wnt7b+

Tumorigenic Igen, meztelen egerekben

Mutational profile TP53 mut

Karyotype Mód = 66, dicentrikus és extra hosszú szubmetacentrikus kromoszómák

A kezelése

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)

Supplements A táptalajt 10% FBS-szel, 10 mikrogramm/ml HREC inzulinnal egészítjük ki

Dissociation Reagent Accutase

T47D sejtek | 300353

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density 1×10^4 sejt/cm²

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Post-Thaw Recovery Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

T47D sejtek | 300353

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párásított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

T47D sejtek | 300353

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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