

T47D šūnas | 300353

Vispārīga informācija

Description

T47D šūnu līnija, kas iegūta no krūts infiltrējošas duktālās karcinomas pleiras izplūdes, ir kļuvusi par būtisku resursu krūts vēža pētniecībā. T-47D šūnas ir unikālas vēža izpētes jomā, jo tām ir unikāls hormonālās ekspresijas profils, jo īpaši 17 beta estradiola, dažādu citu steroidu un kalcitonīna receptori. Turklāt T47D šūnas ekspresē WNT7B onkogēnu.

T47D šūnas izceļas ar to, ka to progesterona receptoru ekspresiju neregulē estradiols, neraugoties uz to, ka šūnās šī hormona ir daudz, tādējādi tās atšķiras no MCF7 šūnām, kuras ir plaši pazīstamas ar to estrogēna receptoru pozitīvo raksturu un kuras bieži izmanto, lai pētītu estrogēna lomu audzēju proliferācijā un reakcijā uz terapiju.

T47D šūnu līnija ir noderīga arī, veidojot ksenogrāfijas imūndeficītām pelēm, kas ir vērtīgas zāļu testēšanai, receptoru statusa izmaiņu novērošanai un angiogēzes izpētei.

Turklāt T-47D šūnu līnija ir resurss vēža gēnu izpētei, sniedzot ieskatu par krūts vēzi veicinošo genomu un proteomu ainavu. Veicinot padziļinātu izpratni par krūts vēža proteomiskajiem un transkriptomiskajiem profiliem, t47d krūts vēža šūnu līnija palīdz identificēt jaunus krūts vēža šūnu fenotipus un izstrādāt mērķterapijas.

T47D šūnas ir bijušas noderīgas, pētot hormonu, piemēram, progesterona, ietekmi uz krūts vēzi, sniedzot ieskatu par transkripcijas regulāciju, rezistenci pret zālēm un izstrādājot ksenogrāfta modeļus terapeitiskiem testiem.

Organism

Cilvēks

Tissue

Krūtis

Disease

Invazīva duktālā karcinoma

Metastatic site

Pleiras izsvīdums

Synonyms

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

Raksturojums

Age

54 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Epitēlijveidīgs

T47D šūnas | 300353

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation T47D (Cytion kataloga numurs 300353)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0553

Biomolekulārie dati

Receptors expressed Estradiols, steroidi, kalcitonīns, androgēns, progesterons, glikokortikoīds, prolaktīns, estrogēns

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

Oncogenes Wnt3 +, wnt7h +, wnt7b+

Tumorigenic Jā, kailām pelēm

Mutational profile TP53 mutācija

Karyotype Mode = 66, dicentriskas un īpaši garas submetacentriskas hromosomas

Darbs ar

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Supplements Papildiniet barotni ar 10% FBS, 10 mikrogramiem/ml HREC insulīna

Dissociation Reagent Accutase

T47D šūnas | 300353

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density 1×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

T47D šūnas | 300353

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

T47D šūnas | 300353

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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