

Клетки ТТ | 305027

Обща информация

Description Клетките ТТ непрекъснато произвеждат високи нива на калцитонин и СЕА. Установено е, че имунореактивният калцитонин се произвежда в клетъчна култура на нива от 3900 pg/милион клетки и 7700 pg/милион клетки съответно 24 и 72 часа след смяна на средата. Установено е, че СЕА се натрупва до повече от 27 ng/милион клетки за период от 72 часа. Хромозомният анализ на клетъчната линия и туморите, индуцирани в голи мишки, показва анеуплоиден човешки кариотип с няколко маркерни хромозоми. Първоначалните изследвания за характеризиране на клетъчната линия ТТ са проведени, като са използвани ранни пасажи на ТТ клетки, култивирани в среда RPMI 1640, допълнена с 15 % фетален говежди серум и 1 mM L-глутамин. Не е известно дали невропептидите, за които се съобщава, че се произвеждат от тази клетъчна линия, когато е отглеждана в среда RPMI 1640, се произвеждат от клетките и когато се култивират в среда Ham's F-12K. хромозомният анализ на клетъчната линия и туморите, индуцирани в голи мишки, разкрива анеуплоиден човешки кариотип с няколко маркерни хромозоми.

Organism Човек

Tissue Щитовидна жлеза, медула

Disease Наследствен медуларен карцином на щитовидната жлеза, Множествена ендокринна неоплазия тип 2

Metastatic site Неприложимо (първичен наследствен медуларен карцином на щитовидната жлеза; липса на документирани отдалечени метастази)

Applications Изследвания върху медуларния карцином на щитовидната жлеза; биология на невроендокринните тумори; проучвания върху секрецията на калцитонин; биология на MEN2; анализ на сигналния път на протоонкогена RET; лекарствена чувствителност (кабозантиниб, вандетаниб, еверолимус); изследвания върху невроендокринните биомаркери; разработване на тест за СЕА

Synonyms МТС-ТТ

Характеристики

Age 77 години

Gender Жена

Ethnicity Европейски

Morphology Подобни на епител

Cell type Невроендокринни клетки (С-клетки / парафоликуларни клетки)

Клетки TT | 305027

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation	TT (каталожен номер 305027 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1774
GMO Status	Без генетична модификация; клетъчна линия на наследствен медуларен карцином на щитовидната жлеза от див тип

Биомолекулярни данни

Protein expression Калцитонин, карциноембрионален антиген(СЕА)

Tumorigenic Да

Работа с

Culture Medium Среда Ham's F12K, w: 2,0 mM L-глутамин, w: 2,0 mM натриев пируват, w: 2,5 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820608a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS, 1% NEAA и 1mM Sodiumpyruvat

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time приблизително 36 до 48 часа

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.

Клетки TT | 305027

Split ratio от 1 до 3

Seeding density от 1 до 3×10^4 клетки/см²

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Post-Thaw Recovery След размразяване разпределете клетките в култура с плътност 5×10^4 клетки/см² и изчакайте поне 24 часа за прилепване, преди да извършите първата смяна на средата. Забележка: Производството на калцитонин може да отнеме 24–72 часа след размразяването, преди да се достигнат стабилни нива на секреция.

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 TT | 305027

**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

Няма

**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 TT | 305027

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.