

TT Cells | 305027

Obecné informace

Description	TT buňky kontinuálně produkují vysoké hladiny kalcitoninu a CEA. Bylo zjištěno, že imunoreaktivní kalcitonin je v buněčné kultuře produkován v množství 3900 pg/milion buněk a 7700 pg/milion buněk 24 a 72 hodin po výměně média. Bylo zjištěno, že CEA se během 72 hodin nahromadí na více než 27 ng/milion buněk. Chromozomální analýza buněčné linie a nádorů indukovaných u nahých myší ukazuje aneuploidní lidský karyotyp s několika markerovými chromozomy. Počáteční charakterizační studie buněčné linie TT byly provedeny s použitím buněk TT v rané pasáži kultivovaných v médiu RPMI 1640 doplněném 15% fetálním hovězím sérem a 1mM L-glutaminem. Není známo, zda neuropeptidy, o nichž se uvádí, že je tato buněčná linie produkuje, když byla kultivována v médiu RPMI 1640, jsou buňkami produkovány také, když jsou kultivovány v médiu Ham's F-12K. Chromozomální analýza buněčné linie a nádorů vyvolaných u nahých myší ukazuje aneuploidní lidský karyotyp s několika markerovými chromozomy.
Organism	Člověk
Tissue	Štítná žláza, dřeň
Disease	Hereditární medulární karcinom štítné žlázy, mnohočetná endokrinní neoplazie typu 2
Metastatic site	Neplatí (primární hereditární medulární karcinom štítné žlázy; žádné zdokumentované vzdálené metastázy)
Applications	Výzkum medulárního karcinomu štítné žlázy; biologie neuroendokrinních nádorů; studie sekrece kalcitoninu; biologie MEN2; analýza signální dráhy protoonkogenu RET; citlivost na léky (kabozantinib, vandetanib, everolimus); výzkum neuroendokrinních biomarkerů; vývoj testů na CEA
Synonyms	MTC-TT

Charakteristika

Age	77 let
Gender	Ženy
Ethnicity	Evropská
Morphology	Epitelu podobné
Cell type	Neuroendokrinní buňky (C-buňky / parafollikulární buňky)
Growth properties	Adherentní

TT Cells | 305027

Regulační údaje

Citation	TT (katalogové číslo Cytion 305027)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1774
GMO Status	Bez genetické modifikace; buněčná linie divokého typu dědičného medulárního karcinomu štítné žlázy

Biomolekulární data

Protein expression	Kalcitonin, karcinoembryonální antigen(CEA)
Tumorigenic	Ano

Zpracování

Culture Medium	Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutamin, w: 2,0 mM Pyruvát sodný, w: 2,5 g/l NaHCO ₃ (číslo článku Cytion 820608a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS, 1% NEAA a 1mM sodiumpyruvát
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	přibližně 36 až 48 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	1 až 3
Seeding density	1 až 3 × 10 ⁴ buněk/cm ²

TT Cells | 305027

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Post-Thaw Recovery

Po rozmrazení naneste buňky na kultivační misky v hustotě 5×10^4 buněk/cm² a před první výměnou média vyčkejte alespoň 24 hodin, aby se buňky přichytily. Poznámka: K dosažení stabilní úrovně sekrece kalcitoninu může být zapotřebí 24–72 hodin po rozmrazení.

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

TT Cells | 305027

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza**Sterility**

Kontaminace mykoplasmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,13
D13S317: 11
D16S539: 12,13
D5S818: 12,13
D7S820: 10,12
TH01: 6,9
TPOX: 8,11
vWA: 16,18
D3S1358: 15
D21S11: 29,32.2
D18S51: 12
Penta E: 7,13
Penta D: 13,13
D8S1179: 15,16
FGA: 21,25
D6S1043: 12,13
D2S1338: 17,23
D12S391: 15,21
D19S433: 14,15