

TT-celler | 305027

General information

Description	TT-celler producerer kontinuerligt høje niveauer af calcitonin og CEA. immunreaktivt calcitonin viste sig at blive produceret i cellekultur på niveauer på 3900 pg/million celler og 7700 pg/million celler henholdsvis 24 og 72 timer efter et mediumskift. CEA viste sig at akkumulere til mere end 27 ng/million celler over en periode på 72 timer. kromosomanalyse af cellelinjen og tumorer induceret i nøgne mus afslører en aneuploid human karyotype med flere markørkromosomer. De første karakteriseringsstudier af TT-cellelinjen blev udført ved hjælp af TT-celler med tidlig passage dyrket i RPMI 1640-medium suppleret med 15% føtalt kvægserum og 1mM L-glutamin. Det vides ikke, om de neuropeptider, der rapporteres at blive produceret af denne cellelinje, når den blev dyrket i RPMI 1640-medium, også produceres af cellerne, når de dyrkes i Ham's F-12K-medium. Kromosomanalyse af cellelinjen og tumorer induceret i nøgenmus afslører en aneuploid human karyotype med flere markørkromosomer.
Organism	Menneske
Tissue	Skjoldbruskkirtel, medulla
Disease	Arveligt medullært karcinom i skjoldbruskkirtlen, multipel endokrin neoplasie type 2
Metastatic site	Ikke relevant (primært arveligt medullært skjoldbruskkirtelkarcinom; ingen dokumenterede fjerne metastaser)
Applications	Forskning i medullært skjoldbruskkirtelkarcinom; biologi ved neuroendokrine tumorer; undersøgelser af calcitoninsekretion; biologi ved MEN2; analyse af RET-protoonkogen-signalvejen; lægemiddelfølsomhed (cabozantinib, vandetanib, everolimus); forskning i neuroendokrine biomarkører; udvikling af CEA-analyser
Synonyms	MTC-TT

Karakteristika

Age	77 år
Gender	Kvinde
Ethnicity	Europæisk
Morphology	Epitel-lignende
Cell type	Neuroendokrine celler (C-celler / parafolikulære celler)
Growth properties	Vedhæftende

TT-celler | 305027

Regulatoriske data

Citation	TT (Cytion katalognummer 305027)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1774
GMO Status	Ingen genetisk modifikation; vildtype-arvelig cellelinje fra medullært skjoldbruskkirtelkarcinom

Biomolekylære data

Protein expression	Calcitonin, carcinoembryonalt antigen (CEA)
Tumorigenic	Yeess

Håndtering

Culture Medium	Ham's F12K Medium, m: 2,0 mM L-Glutamin, m: 2,0 mM Natriumpyruvat, m: 2,5 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820608a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS, 1% NEAA og 1mM Sodumpyruvat
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	ca. 36 til 48 timer
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Split ratio	1 til 3
Seeding density	1 til 3 × 10 ⁴ celler/cm ²

TT-celler | 305027

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

Post-Thaw Recovery Efter optøning udplades cellerne med en tæthed på 5×10^4 celler/cm², og der skal afventes mindst 24 timer, indtil cellerne har fæstnet sig, før det første medieskift foretages. Bemærk: Det kan tage 24–72 timer efter optøning, før produktionen af calcitonin når et stabilt sekretionsniveau.

Freeze medium Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, befugtet atmosfære.

Flask Coating Ingen

TT-celler | 305027

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.