

TT rakud | 305027

Üldine teave

Description	TT rakud toodavad pidevalt kõrget kaltsitoniini ja CEA taset. Immunoreaktiivset kaltsitoniini leiti rakukultuuris toodetavat vastavalt 3900 pg/miljon rakku ja 7700 pg/miljon rakku 24 ja 72 tundi pärast söötme vahetamist. CEA akumuleerub 72 tunni jooksul rohkem kui 27 ng/miljon rakku. Rakuliini ja alasti hiirtel indutseeritud kasvajate kromosoomianalüüs näitab aneuploidset inimkaryotüüpi mitme marker-kromosoomiga. TT rakuliini esialgsed iseloomustusuuringud viidi läbi, kasutades TT rakke, mida kasvatati RPMI 1640 keskkonnas, millele lisati 15% veise loote seerumit ja 1mM L-glutamiini. Ei ole teada, kas neuropeptiide, mida see rakuliin toodab RPMI 1640 keskkonnas kasvatamisel, toodavad rakud ka siis, kui neid kasvatatakse Ham's F-12K keskkonnas. Rakuliini ja alasti hiirtel indutseeritud kasvajate kromosoomianalüüs näitab inimese aneuploidset karyotüüpi mitme markerkromosoomiga.
Organism	Inimene
Tissue	Kilpnääre, keskosa
Disease	Pärilik kilpnäärme medullaarne kartsinoom, 2. tüüpi hulgiline endokriinsete neoplaasia
Metastatic site	Ei kohaldata (primaarne pärilik medullaarne kilpnäärmekartsinoom; dokumenteeritud kaugmetastaase puuduvad)
Applications	Kilpnäärme medullaarkartsinoomi uurimine; neuroendokriinsete kasvajate bioloogia; kaltsitoniini sekretsiooni uuringud; MEN2 bioloogia; RET-protoonkogeeni signaalitee analüüs; ravimite suhtes tundlikkus (kabozantinib, vandetanib, everoliimus); neuroendokriinsete biomarkerite uurimine; CEA-analüüsi väljatöötamine
Synonyms	MTC-TT

Omadused

Age	77 aastat
Gender	Naised
Ethnicity	Euroopa
Morphology	Epiteelilaadsed
Cell type	Neuroendokriinsed rakud (C-rakud / parafollikulaarsed rakud)
Growth properties	Kinnipeetav

TT rakud | 305027

Regulatiivsed andmed

Citation	TT (Cytioni katalooginumbr 305027)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1774
GMO Status	Geneetiliselt muundamata; loodusliku tüüpi pärilik medullaarne kilpnäärme kartsinoomi rakuliin

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression	Kaltsitoniin, kartsinoembrüonaalne antigeen (CEA)
Tumorigenic	Jah

Töötlemine

Culture Medium	Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutamiin, w: 2,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,5 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820608a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS, 1% NEAA ja 1mM naatriumpüruvaadiga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	umbes 36–48 tundi
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Split ratio	1–3
Seeding density	1–3 × 10 ⁴ rakku/cm ²

TT rakud | 305027

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery

Pärast sulatamist külvake rakud tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske neil enne esimest kasvukeskkonna vahetust vähemalt 24 tundi kinnituda. Märkus: Kaltsitoniini tootmine võib pärast sulatamist võtta aega 24–72 tundi, enne kui saavutatakse stabiilne sekretsioonitase.

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

TT rakud | 305027

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.