

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

Synonyms MTC-TT

Omadused

Age 77 aastat

Gender Naised

Ethnicity Euroopa

Morphology Epiteel

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation TT (Cytioni katalooginumber 305027)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1774

TT rakud | 305027

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 NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820608a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS, 1% NEAA ja 1mM naatriumpüruvaadiga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt 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.

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

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

TT rakud | 305027

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

TT rakud | 305027

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.