

TT-kennot | 305027

Yleisiä tietoja

Description	TT-solut tuottavat jatkuvasti suuria määriä kalsitoniinia ja CEA:ta. Immunoreaktiivista kalsitoniinia havaittiin tuotettavan soluviljelmässä 3900 pg/miljoonaa solua ja 7700 pg/miljoonaa solua 24 ja 72 tuntia väliaineen vaihdon jälkeen. CEA:n havaittiin kertyvän yli 27 ng/miljoonaan soluun 72 tunnin aikana. Solulinjan ja alastomilla hiirillä indusoitujen kasvainten kromosomianalyysi paljastaa aneuploidisen ihmiskaryotyypin, jossa on useita merkkikromosomeja. TT-solulinjan ensimmäiset karakterisointitutkimukset tehtiin käyttäen TT-soluja, joita kasvatettiin RPMI 1640 -mediassa, jota täydennettiin 15 %:lla naudan sikiöseerumilla ja 1 mM L-glutamiinilla. Ei tiedetä, tuottavatko solut niitä neuropeptidejä, joita tämän solulinjan raportoitiin tuottavan, kun sitä kasvatettiin RPMI 1640 -alustassa, myös silloin, kun niitä kasvatetaan Ham's F-12K -alustassa. Solulinjan ja alastomilla hiirillä indusoitujen kasvainten kromosomianalyysi paljastaa aneuploidisen ihmisen karyotyypin, jossa on useita merkkikromosomeja.
Organism	Ihminen
Tissue	Kilpirauhanen, ydin
Disease	Perinnöllinen kilpirauhasen medullaarinen karsinooma, Multippeli endokriininen neoplasia tyyppi 2
Metastatic site	Ei sovelleta (primaarinen perinnöllinen medullaarinen kilpirauhassyöpä; etämetastaaseja ei ole dokumentoitu)
Applications	Kilpirauhasen medullaarisen karsinooman tutkimus; neuroendokriinisten kasvainten biologia; kalsitoniinin eritystä koskevat tutkimukset; MEN2-oireyhtymän biologia; RET-protoonkokeen signaalintireitin analyysi; lääkeherkkyys (kablozantiini, vandetanibi, everolimuusi); neuroendokriinisten biomarkkerien tutkimus; CEA-määrittelyn kehittäminen
Synonyms	MTC-TT

Ominaisuudet

Age	77 vuotta
Gender	Nainen
Ethnicity	Eurooppalainen
Morphology	Epiteelin kaltainen
Cell type	Neuroendokriiniset solut (C-solut / parafollikulaariset solut)
Growth properties	Tarttuva

TT-kennot | 305027

Säätelytiedot

Citation	TT (Cytionin luettelonumero 305027)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1774
GMO Status	Ei geneettisesti muunnettu; villityyppinen perinnöllinen medullaarinen kilpirauhassyöpäsolulinja

Biomolekyyli tiedot

Protein expression	Kalsitoniini, karsinoembryoninen antigeeni (CEA)
Tumorigenic	Kyllä

Käsittely

Culture Medium	Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutamiinia, w: 2,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,5 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820608a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä, 1 % NEAA:lla ja 1 mM natriumpyruvatilla
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	noin 36–48 tuntia
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Split ratio	1–3

TT-kennot | 305027

Seeding density 1–3 × 10⁴ solua/cm²

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Sulatuksen jälkeen solut siirretään viljelyastioihin tiheydellä 5 × 10⁴ solua/cm² ja annetaan niiden kiinnittyä vähintään 24 tuntia ennen ensimmäistä elatusaineen vaihtoa. Huomautus: Kalsitoniinin tuotanto saattaa vaatia 24–72 tuntia sulatuksen jälkeen, ennen kuin erittymistasot vakiintuvat.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäällä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäätä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

TT-kennot | 305027

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.