

Cellules TT | 305027

Informations générales

Description Les cellules TT produisent continuellement des niveaux élevés de calcitonine et d'ACE. On a constaté que la calcitonine immunoréactive était produite dans la culture cellulaire à des niveaux de 3900 pg/million de cellules et de 7700 pg/million de cellules 24 et 72 heures respectivement, après un changement de milieu. On a constaté que l'ACE s'accumulait à plus de 27 ng/million de cellules sur une période de 72 heures. L'analyse chromosomique de la lignée cellulaire et des tumeurs induites chez les souris nude révèle un caryotype humain aneuploïde avec plusieurs chromosomes marqueurs. Les études initiales de caractérisation de la lignée cellulaire TT ont été menées en utilisant des cellules TT de premier passage cultivées dans un milieu RPMI 1640 supplémenté avec 15% de sérum bovin fœtal et 1mM de L-glutamine. On ne sait pas si les neuropeptides produits par cette lignée cellulaire lorsqu'elle est cultivée dans le milieu RPMI 1640 sont également produits par les cellules lorsqu'elles sont cultivées dans le milieu Ham's F-12K. L'analyse chromosomique de la lignée cellulaire et des tumeurs induites chez la souris nude révèle un caryotype humain aneuploïde avec plusieurs chromosomes marqueurs.

Organism Humain

Tissue Thyroïde, médullaire

Disease Carcinome médullaire héréditaire de la glande thyroïde, néoplasie endocrinienne multiple de type 2

Metastatic site Sans objet (carcinome médullaire thyroïdien héréditaire primaire ; aucune métastase à distance documentée)

Applications Recherche sur le carcinome médullaire de la thyroïde ; biologie des tumeurs neuroendocrines ; études sur la sécrétion de calcitonine ; biologie du syndrome MEN2 ; analyse de la voie du proto-oncogène RET ; sensibilité aux médicaments (cabozantinib, vandétanib, évérolimus) ; recherche sur les biomarqueurs neuroendocriniens ; mise au point de dosages du CEA

Synonyms MTC-TT

Caractéristiques

Age 77 ans

Gender Femme

Ethnicity Européen

Morphology De type épithélial

Cell type Cellules neuroendocrines (cellules C / cellules parafolliculaires)

Cellules TT | 305027

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Citation TT (numéro de catalogue 305027 de Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1774

GMO Status Sans modification génétique ; lignée cellulaire de carcinome médullaire thyroïdien de type sauvage

Données biomoléculaires

Protein expression Calcitonine, Antigène carcino-embryonnaire (ACE)

Tumorigenic Oui

Manipulation

Culture Medium Milieu Ham's F12K, w : 2.0 mM L-Glutamine, w : 2.0 mM Sodium pyruvate, w : 2.5 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820608a)

Supplements Compléter le milieu avec 10% de FBS, 1% de NEAA et 1mM de Sodiumpyruvat

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time environ 36 à 48 heures

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Cellules TT | 305027

Split ratio 1 à 3

Seeding density 1 à 3 × 10⁴ cellules/cm²

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Post-Thaw Recovery Après décongélation, ensemercer les cellules à raison de 5 × 10⁴ cellules/cm² et laisser au moins 24 heures pour l'adhérence avant le premier changement de milieu. Remarque : la production de calcitonine peut nécessiter 24 à 72 heures après la décongélation avant d'atteindre des niveaux de sécrétion stables.

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules TT | 305027

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78°C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules TT | 305027

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

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