

TT sejtek | 305027

Általános információk

Description A TT sejtek folyamatosan nagy mennyiségű kalcitonin és CEA-t termelnek. Immunreaktív kalcitonin termelődését a sejt kultúrában 3900 pg/millió sejt és 7700 pg/millió sejt szintjén találták 24, illetve 72 órával a táptalaj cseréje után. A CEA felhalmozódását több mint 27 ng/millió sejtre találták 72 óra alatt. A sejtvonal és a meztelen egerekben indukált tumorok kromoszómaanalízise aneuploid emberi kariotípust mutat, több marker kromoszómával. A TT sejtvonal kezdeti jellemzési vizsgálatai korai passzázs TT sejtekkel történtek, amelyeket 15% magzati szarvasmarha szérummal és 1 mM L-glutaminnal kiegészített RPMI 1640 táptalajon tenyésztettek. Nem ismert, hogy a sejtvonal RPMI 1640-es tápfolyadékban történő tenyésztése során a sejtek által termelt neuropeptideket a Ham's F-12K tápfolyadékban történő tenyésztés során is termelik-e. A sejtvonal és a meztelen egerekben indukált tumorok kromoszómaanalízise aneuploid emberi kariotípust mutat, több marker kromoszómával.

Organism Emberi

Tissue Pajzsmirigy, medulla

Disease Örökletes pajzsmirigy medulláris karcinóma, 2-es típusú endokrin neoplázia multiplex

Synonyms MTC-TT

Jellemzők

Age 77 év

Gender Női

Ethnicity Európai

Morphology Epithelialis

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation TT (Cytion katalógusszám: 305027)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

TT sejtek | 305027

CellosaurusAccession CVCL_1774

Biomolekuláris adatok

Protein expression Kalcitonin, karcinoembryonális antigén (CEA)

Tumorigenic Igen

A kezelése

Culture Medium Ham's F12K médium, w: 2,0 mM L-Glutamin, w: 2,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,5 g/L NaHCO₃ (Cytion cikkszám 820608a)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 1% NEAA-val és 1 mM nátrium-piruváttal

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadéokban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

TT sejtek | 305027

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

TT sejtek | 305027

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.