

TT sejtek | 305027

Általános információk

Description	A TT sejtek folyamatosan nagy mennyiségű kalcitonin és CEA-t termelnek. Immunreaktív kalcitonin termelődését a sejtkultúrában 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
Metastatic site	Nem alkalmazható (elsődleges örökletes medulláris pajzsmirigy-karcinóma; dokumentált távoli áttét nincs)
Applications	A pajzsmirigy medulláris karcinómájának kutatása; a neuroendokrin daganatok biológiája; a kalcitonin-szekréció vizsgálata; a MEN2 biológiája; a RET protoonkogén jelátviteli útjának elemzése; gyógyszerérzékenység (cabozantinib, vandetanib, everolimus); a neuroendokrin biomarkerek kutatása; CEA-vizsgálat kidolgozása
Synonyms	MTC-TT

Jellemzők

Age	77 év
Gender	Női
Ethnicity	Európai
Morphology	Epithelszerű
Cell type	Neuroendokrin sejtek (C-sejtek / parafolikuláris sejtek)
Growth properties	Adherent

TT sejtek | 305027

Szabályozási adatok

Citation	TT (Cytion katalógusszám: 305027)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1774
GMO Status	Génmódosítás nélkül; vad típusú örökletes medulláris pajzsmirigy-karcinóma sejtvonala

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 NaHCO ₃ (Cytion cikkszám 820608a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 1% NEAA-val és 1 mM nátrium-piruváttal
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	kb. 36–48 óra
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 tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Split ratio	1–3

TT sejtek | 305027

Seeding density 1–3 × 10⁴ sejt/cm²

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Post-Thaw Recovery Felolvasztás után a sejteket 5 × 10⁴ sejt/cm² sűrűséggel ültessük be a tenyésztőedénybe, és az első tápközcserére előtt legalább 24 órát várjunk a tapadásra. Megjegyzés: A kalcitonin termelése esetében a felolvasztás után 24–72 órára lehet szükség a stabil szekréciós szint eléréséhez.

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.

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 krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 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 sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

TT sejtek | 305027

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, párasított légkör.

Flask Coating Nincs

Freezing Procedure A kriokonzervált sejtvonalakat 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 sejtvonalakat 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.

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.