Product sheet

Cellule TT | 305027

Informazioni generali

Description	Le cellule TT producono continuamente alti livelli di calcitonina e CEA. La calcitonina immunoreattiva è stata prodotta nella coltura cellulare a livelli di 3900 pg/milioni di cellule e 7700 pg/milioni di cellule rispettivamente 24 e 72 ore dopo un cambio di terreno. Il CEA è stato riscontrato accumularsi a più di 27 ng/milioni di cellule nell'arco di 72 ore. L'analisi cromosomica della linea cellulare e dei tumori indotti in topi nudi rivela un cariotipo umano aneuploide con diversi cromosomi marcatori.Gli studi iniziali di caratterizzazione della linea cellulare TT sono stati condotti utilizzando cellule TT di primo passaggio coltivate in terreno RPMI 1640 integrato con il 15% di siero fetale bovino e 1mM di L-glutammina.Non è noto se i neuropeptidi di cui è stata segnalata la produzione da parte di questa linea cellulare quando è stata coltivata in terreno RPMI 1640 siano prodotti dalle cellule anche quando sono coltivate in terreno Ham's F-12K. L'analisi cromosomica della linea cellulare e dei tumori indotti in topi nudi rivela un cariotipo umano aneuploide con diversi cromosomi marcatori.
Organism	Umano
Tissue	Tiroide, midollo allungato
Disease	Carcinoma midollare ereditario della ghiandola tiroidea, Neoplasia endocrina multipla di tipo 2
Metastatic site	Non applicabile (carcinoma midollare della tiroide ereditario primario; nessuna metastasi a distanza documentata)
Applications	Ricerca sul carcinoma midollare della tiroide; biologia dei tumori neuroendocrini; studi sulla secrezione di calcitonina; biologia della MEN2; analisi della via del proto-oncogene RET; sensibilità ai farmaci (cabozantinib, vandetanib, everolimus); ricerca sui biomarcatori neuroendocrini; sviluppo di test per il CEA
Synonyms	MTC-TT

Caratteristiche

Age	77 anni
Gender	Donna
Ethnicity	Europeo
Morphology	Simile all'epitelio
Cell type	Cellule neuroendocrine (cellule C / cellule parafollicolari)
Growth properties	Aderente

Cellule TT | 305027

Dati normativi

Citation	TT (numero di catalogo Cytion 305027)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1774
GMO Status	Senza modificazioni genetiche; linea cellulare di carcinoma midollare della tiroide ereditario di tipo selvatico

Dati biomolecolari

Protein expression	Calcitonina, Antigene Carcinoembrionale (CEA)
Tumorigenic	Sì

Manipolazione

Culture Medium	Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutammina, w: 2,0 mM Sodio piruvato, w: 2,5 g/L NaHCO3 (articolo Cytion numero 820608a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS, l'1% di NEAA e 1mM di Sodiopiruvato
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	circa da 36 a 48 ore
Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
Split ratio	da 1 a 3

Cellule TT | 305027

Seeding density	da 1 a 3 × 10^4 cellule/cm^2
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
Post-Thaw Recovery	Dopo lo scongelamento, seminare le cellule a una densità di 5 × 10^4 cellule/cm^2 e attendere almeno 24 ore affinché aderiscano prima di effettuare il primo cambio di terreno di coltura. Nota: la produzione di calcitonina potrebbe richiedere 24–72 ore dopo lo scongelamento prima di raggiungere livelli di secrezione stabili.
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.
Thawing and Culturing Cells	1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto. 2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata. 3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio. 4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura. 5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente. 6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo. 7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule. 8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.

Cellule TT | 305027

Flask Coating	Nessuno
Freezing Procedure	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Shipping Conditions	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility	La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza. Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.
Profilo 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