Product sheet

TT ląstelės | 305027

Bendra informacija

Description	TT ląstelės nuolat gamina didelį kalcitonino ir CEA kiekį.Nustatyta, kad ląstelių kultūroje imunoreaktyvus kalcitoninas gaminamas 3900 pg/mln. ląstelių ir 7700 pg/mln. ląstelių praėjus atitinkamai 24 ir 72 valandoms po terpės pakeitimo.Nustatyta, kad CEA per 72 valandas susikaupia iki daugiau kaip 27 ng/mln. ląstelių.Atlikus ląstelių linijos ir navikų, sukeltų nuogoms pelėms, chromosominę analizę, nustatytas aneuploidinis žmogaus kariotipas su keliomis žyminėmis chromosomomis.Pradiniai TT ląstelių linijos apibūdinimo tyrimai atlikti naudojant ankstyvosios stadijos TT ląsteles, augintas RPMI 1640 terpėje, papildytoje 15 % embrioninio galvijų serumo ir 1 mM L-glutamino.Nežinoma, ar neuropeptidus, apie kuriuos pranešta, kad ši ląstelių linija gamina, kai ji buvo auginama RPMI 1640 terpėje, ląstelės gamina ir tada, kai jos kultivuojamos Hamo F-12K terpėje.Atlikus ląstelių linijos ir navikų, sukeltų nuogoms pelėms, chromosominę analizę, nustatytas aneuploidinis žmogaus kariotipas su keliomis žymінčiomis chromosomomis.
Organism	Žmogus
Tissue	Skydliaukė, medula
Disease	Paveldima skydliaukės medulinė karcinoma, 2 tipo daugybinė endokrininė neoplazija
Metastatic site	Netaikoma (pirminė paveldima skydliaukės medulinė karcinoma; nėra užfiksuotų tolimųjų metastazių)
Applications	Skydliaukės medulinės karcinomos tyrimai; neuroendokrininių navikų biologija; kalcitonino sekrecijos tyrimai; MEN2 biologija; RET protoonkogeno signalo kelio analizė; jautrumas vaistams (kabozantinibas, vandetanibas, everolimusas); neuroendokrininių biomarkerių tyrimai; CEA tyrimo metodo kūrimas
Synonyms	MTC-TT

Charakteristikos

Age	77 metai
Gender	Moteris
Ethnicity	Europos
Morphology	Į epitelį panašus
Cell type	Neuroendokrininės ląstelės (C ląstelės / parafolikulinės ląstelės)
Growth properties	Prigludęs

TT ląstelės | 305027

Reguliavimo duomenys

Citation	TT (Cytion katalogo numeris 305027)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1774
GMO Status	Be genetinių modifikacijų; natūralaus tipo paveldimoji medulinės skydliaukės karcinomos ląstelių linija

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression	Kalcitoninas, karcinoembrioninis antigenas(CEA)
Tumorigenic	Taip

Tvarkymas

Culture Medium	Ham's F12K terpė, w: 2,0 mM L-Glutaminas, w: 2,0 mM natrio piruvatas, w: 2,5 g/L NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820608a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS, 1 % NEAA ir 1 mM natrio piruvato
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	maždaug nuo 36 iki 48 valandų
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Split ratio	1–3
Seeding density	nuo 1 iki 3 × 10^4 ląstelių/cm^2

TT ląstelės | 305027

Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Post-Thaw Recovery	Atšildžius, ląsteles pasėkite 5 × 10^4 ląstelių/cm^2 tankumu ir prieš pirmąjį terpės keitimą palaukite mažiausiai 24 valandas, kol ląstelės prisitvirtins. Pastaba: kad kalcitonino sekrecijos lygis pasiektų stabilų lygį, po atšildymo gali prireikti 24–72 valandų.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
Thawing and Culturing Cells	1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra. 2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti. 3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis. 4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu. 5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite. 6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais. 7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą. 8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra

TT ląstelės | 305027

Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.