

## TT šūnas | 305027

## Vispārīga informācija

<b>Description</b>	TT šūnas nepārtraukti producē augstu kalcitonīna un CEA līmeni. Tika konstatēts, ka šūnu kultūrā imūnreaktīvais kalcitonīns 24 un 72 stundas pēc barotnes nomaiņas saražo 3900 pg/milijonu šūnu un 7700 pg/milijonu šūnu. Tika konstatēts, ka CEA 72 stundu laikā uzkrājas vairāk nekā 27 ng/milijonu šūnu. Šūnu līnijas un nude peļu inducēto audzēju hromosomu analīze atklāja aneuploīdu cilvēka kariotipu ar vairākām marķierhromosomām. TT šūnu līnijas sākotnējie raksturojuma pētījumi tika veikti, izmantojot TT šūnas, kas kultivētas RPMI 1640 barotnē, kas papildināta ar 15 % liellopu fetālā seruma un 1 mM L-glutamīna. Nav zināms, vai neuropeptidus, par kuriem ziņots, ka tos ražo šī šūnu līnija, kad tā tika audzēta RPMI 1640 barotnē, šūnas ražo arī tad, kad tās kultivē Hama F-12K barotnē. Šūnu līnijas un nude pelēm inducēto audzēju hromosomu analīze atklāja aneuploīdu cilvēka kariotipu ar vairākām marķieru hromosomām.
<b>Organism</b>	Cilvēks
<b>Tissue</b>	Vairogdziedzera, starpdziedzera
<b>Disease</b>	Iedzimta vairogdziedzera medulārā karcinoma, 2. tipa multiplā endokrīnā neoplāzija
<b>Metastatic site</b>	Neattiecas (primārā iedzimta medulārā vairogdziedzera karcinoma; nav dokumentētu attālo metastāžu)
<b>Applications</b>	Pētījumi par vairogdziedzera medulāro karcinomu; neuroendokrīno audzēju bioloģija; kalcitonīna sekrēcijas pētījumi; MEN2 bioloģija; RET protoonkogēna signālceļa analīze; jutība pret zālēm (kabozantinibs, vandetanibs, everolimus); pētījumi par neuroendokrīniem biomarķieriem; CEA analīzes izstrāde
<b>Synonyms</b>	MTC-TT

## Raksturojums

<b>Age</b>	77 gadi
<b>Gender</b>	Sievietes
<b>Ethnicity</b>	Eiropas
<b>Morphology</b>	Epitēlijveidīgs
<b>Cell type</b>	Neuroendokrīnās šūnas (C šūnas / parafollikulārās šūnas)
<b>Growth properties</b>	Adherent

## Normatīvie dati

## TT šūnas | 305027

<b>Citation</b>	TT (Cytion kataloga numurs 305027)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1774
<b>GMO Status</b>	Bez ģenētiskām modifikācijām; savvaļas tipa iedzimta medulārā vairogdziedzera karcinomas šūnu līnija

## Biomolekulārie dati

<b>Protein expression</b>	Kalcitonīns, karcīnoembrionālais antigēns(CEA)
<b>Tumorigenic</b>	Jā

## Darbs ar

<b>Culture Medium</b>	Hama F12K barotne, w: 2,0 mM L-glutamīns, w: 2,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,5 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820608a)
<b>Supplements</b>	Papildiniet barotni ar 10% FBS, 1% NEAA un 1mM nātrija piruvātu
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	aptuveni 36 līdz 48 stundas
<b>Subculturing</b>	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
<b>Split ratio</b>	no 1 līdz 3
<b>Seeding density</b>	1 līdz $3 \times 10^4$ šūnas/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 līdz 3 reizes nedēļā

## TT šūnas | 305027

**Post-Thaw Recovery**

Pēc atkausēšanas izsējiet šūnas ar blīvumu  $5 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup> un pirms pirmās barotnes nomaiņas ļaujiet tām vismaz 24 stundas piestiprināties. Piezīme: lai sasniegtu stabilu kalcitonīna sekrēcijas līmeni, pēc atkausēšanas var būt nepieciešamas 24–72 stundas.

**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Pārlicinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation Atmosphere**

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, mitrināta atmosfēra.

**Flask Coating**

Neviens

## TT šūnas | 305027

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.