

TT-cellen | 305027

Algemene informatie

Description TT cellen produceren continu hoge niveaus van calcitonine en CEA. Immunoreactief calcitonine bleek in de celkweek te worden geproduceerd bij niveaus van 3900 pg/miljoen cellen en 7700 pg/miljoen cellen, respectievelijk 24 en 72 uur na een mediumwissel. CEA bleek te accumuleren tot meer dan 27 ng/miljoen cellen over een periode van 72 uur. Chromosomale analyse van de cellijn en tumoren geïnduceerd in naakte muizen onthullen een aneuploïd menselijk karyotype met verschillende merkerchromosomen. De eerste karakteriseringsstudies van de TT cellijn werden uitgevoerd met behulp van vroege passage TT cellen gekweekt in RPMI 1640 medium aangevuld met 15% foetaal runderserum en 1mM L-glutamine. Het is niet bekend of de neuropeptiden die door deze cellijn geproduceerd worden wanneer deze gekweekt wordt in RPMI 1640 medium ook geproduceerd worden door de cellen wanneer deze gekweekt worden in Ham's F-12K medium. Chromosomale analyse van de cellijn en tumoren geïnduceerd in naakte muizen onthullen een aneuploïd menselijk karyotype met verschillende markerchromosomen.

Organism Mens

Tissue Schildklier, merg

Disease Erfelijk schildklier medullair carcinoom, multipele endocriene neoplasie type 2

Metastatic site Niet van toepassing (primair erfelijk medullair schildkliercarcinoom; geen gedocumenteerde metastasen op afstand)

Applications Onderzoek naar medullair schildkliercarcinoom; biologie van neuro-endocriene tumoren; onderzoek naar de afscheiding van calcitonine; biologie van MEN2; analyse van de RET-proto-oncogen-route; gevoeligheid voor geneesmiddelen (cabozantinib, vandetanib, everolimus); onderzoek naar neuro-endocriene biomarkers; ontwikkeling van CEA-tests

Synonyms MTC-TT

Kenmerken

Age 77 jaar

Gender Vrouw

Ethnicity Europese

Morphology Epitheelachtig

Cell type Neuro-endocriene cellen (C-cellen / parafolliculaire cellen)

TT-cellen | 305027

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	TT (Cytion catalogusnummer 305027)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1774
GMO Status	Geen genetische modificatie; wildtype erfelijke medullaire schildkliercarcinoom-cellijn

Biomoleculaire gegevens

Protein expression Calcitonine, carcino-embryonisch antigeen (CEA)

Tumorigenic Ja

Omgaan met

Culture Medium Ham's F12K-medium, w: 2,0 mM L-glutamine, w: 2,0 mM natriumpyruvaat, w: 2,5 g/L NaHCO₃ (Cytion-artikelnummer 820608a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS, 1% NEAA en 1mM natriumpyruvat

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time ongeveer 36 tot 48 uur

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio 1 tot en met 3

TT-cellen | 305027

Seeding density 1 tot 3×10^4 cellen/cm²

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Post-Thaw Recovery Breng de cellen na het ontdooien uit op een celdichtheid van 5×10^4 cellen/cm² en laat ze ten minste 24 uur hechten voordat u de eerste mediumverversing uitvoert. Opmerking: Het kan 24–72 uur na het ontdooien duren voordat de calcitonineproductie een stabiel secretieniveau bereikt.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

TT-cellen | 305027

Flask Coating Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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