

TT-celler | 305027

Generell informasjon

Description	TT-celler produserer kontinuerlig høye nivåer av kalsitonin og CEA. immunreaktivt kalsitonin ble funnet å bli produsert i cellekultur på nivåer på 3900 pg/million celler og 7700 pg/million celler henholdsvis 24 og 72 timer etter et mediumbytte. CEA ble funnet å akkumuleres til mer enn 27 ng/million celler i løpet av en 72-timers periode. kromosomanalyse av cellelinjen og svulster induisert i nakne mus avslører en aneuploid human karyotype med flere markørkromosomer.De første karakteriseringsstudiene av TT-cellelinjen ble utført ved bruk av TT-celler fra tidlig passasje dyrket i RPMI 1640-medium supplert med 15 % føtalt bovint serum og 1 mM L-glutamin.Det er ikke kjent om neuropeptidene som er rapportert å bli produsert av denne cellelinjen når den ble dyrket i RPMI 1640-medium, også produseres av cellene når de dyrkes i Ham's F-12K-medium. Kromosomanalyse av cellelinjen og svulster induisert i nakne mus viser en aneuploid human karyotype med flere markørkromosomer.
Organism	Menneskelig
Tissue	Skjoldbruskkjertelen, medulla
Disease	Arvelig medullært karsinom i skjoldbruskkjertelen, multipel endokrin neoplasie type 2
Metastatic site	Ikke relevant (primært arvelig medullært skjoldbruskkreft; ingen dokumenterte fjerne metastaser)
Applications	Forskning på medullært skjoldbruskkreft; biologi ved neuroendokrine svulster; studier av kalsitoninsekresjon; biologi ved MEN2; analyse av RET-protoonkogen-signalveien; legemiddelfølsomhet (cabozantinib, vandetanib, everolimus); forskning på neuroendokrine biomarkører; utvikling av CEA-analyser
Synonyms	MTC-TT

Kjennetegn

Age	77 år
Gender	Kvinne
Ethnicity	Europeisk
Morphology	Epitel-lignende
Cell type	Neuroendokrine celler (C-celler / parafollikulære celler)
Growth properties	Vedhengende

TT-celler | 305027

Regulatoriske data

Citation	TT (Cytion-katalognummer 305027)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1774
GMO Status	Ingen genetisk modifisering; arvelig medullær skjoldbruskkreftcellelinje av villtype

Biomolekylære data

Protein expression	Kalsitonin, karsinoembryonalt antigen (CEA)
Tumorigenic	Ja

Håndtering

Culture Medium	Ham's F12K Medium, m: 2,0 mM L-Glutamin, m: 2,0 mM Natriumpyruvat, m: 2,5 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820608a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS, 1 % NEAA og 1 mM Sodiumpyruvat
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	ca. 36 til 48 timer
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	1 til 3
Seeding density	1 til 3×10^4 celler/cm ²

TT-celler | 305027

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Post-Thaw Recovery Etter opptining skal cellene sås med en tetthet på 5×10^4 celler/cm², og det må gis minst 24 timer til cellene har festet seg før det første medieskiftet. Merk: Det kan ta 24–72 timer etter opptining før produksjonen av kalsitonin når stabile sekresjonsnivåer.

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, befuktet atmosfære.

Flask Coating Ingen

TT-celler | 305027

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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