

Komórki TT | 305027

Informacje ogólne

Description Komórki TT stale wytwarzają wysoki poziom kalcytoniny i CEA. Stwierdzono, że immunoreaktywna kalcytonina jest wytwarzana w hodowli komórkowej na poziomie 3900 pg/milion komórek i 7700 pg/milion komórek odpowiednio 24 i 72 godziny po zmianie pożywki. Stwierdzono, że CEA gromadzi się do ponad 27 ng/milion komórek w ciągu 72 godzin. Analiza chromosomalna linii komórkowej i guzów indukowanych u nagich myszy ujawnia aneuploidalny ludzki kariotyp z kilkoma chromosomami markerowymi. Wstępne badania charakterystyki linii komórkowej TT przeprowadzono przy użyciu komórek TT wczesnego pasażowania hodowanych w pożywce RPMI 1640 uzupełnionej 15% płodową surowicą bydlęcą i 1mM L-glutaminą. Nie wiadomo, czy neuropeptydy wytwarzane przez tę linię komórkową, gdy była hodowana w pożywce RPMI 1640, są również wytwarzane przez komórki, gdy są hodowane w pożywce Ham's F-12K. Analiza chromosomalna linii komórkowej i guzów indukowanych u nagich myszy ujawnia aneuploidalny ludzki kariotyp z kilkoma chromosomami markerowymi.

Organism Człowiek

Tissue Tarczycy, rdzeń

Disease Dziedziczny rak rdzeniasty tarczycy, mnoga gruczolakowatość wewnątrzwydzielnicza typu 2

Metastatic site Nie dotyczy (pierwotny dziedziczny rak rdzeniasty tarczycy; brak udokumentowanych przerzutów odległych)

Applications Badania nad rakiem rdzeniastym tarczycy; biologia nowotworów neuroendokrynych; badania nad wydzielaniem kalcytoniny; biologia zespołu MEN2; analiza szlaku protoonkogenu RET; wrażliwość na leki (kabozantynib, wandetanib, ewerolimus); badania nad biomarkerami neuroendokrynymi; opracowywanie testów na poziom CEA

Synonyms MTC-TT

Charakterystyka

Age 77 lat

Gender Kobieta

Ethnicity Europejski

Morphology Podobny do nabłonka

Cell type Komórki neuroendokryne (komórki typu C / komórki parafolikularne)

Growth properties Adherent

Komórki TT | 305027

Dane regulacyjne

Citation	TT (numer katalogowy Cytion 305027)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1774
GMO Status	Bez modyfikacji genetycznych; linia komórkowa dzikiego typu dziedzicznego raka rdzeniowego tarczycy

Dane biomolekularne

Protein expression	Kalcytonina, antygen rakowo-ładowy (CEA)
Tumorigenic	Tak

Obsługa

Culture Medium	Pożywka Ham's F12K, w: 2,0 mM L-glutamina, w: 2,0 mM pirogronian sodu, w: 2,5 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820608a)
Supplements	Uzupełnić pożywkę 10% FBS, 1% NEAA i 1mM pirogronianu sodu
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	ok. 36-48 godzin
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	od 1 do 3
Seeding density	od 1 do 3 × 10 ⁴ komórek/cm ²

Komórki TT | 305027**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery**

Po rozmrożeniu należy wysiać komórki w gęstości 5×10^4 komórek/cm² i odczekać co najmniej 24 godziny, aż komórki przylgną do podłoża, przed pierwszą wymianą pożywki. Uwaga: Osiągnięcie stabilnego poziomu wydzielania kalcytoniny może wymagać od 24 do 72 godzin po rozmrożeniu.

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.

Komórki TT | 305027

Flask Coating Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Komórki TT | 305027

Profil 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