Product sheet

Células TT | 305027

Informações gerais

Description	As células TT produzem continuamente níveis elevados de calcitonina e de CEA. Verificou-se que a calcitonina imunorreactiva é produzida em cultura celular a níveis de 3900 pg/milhão de células e de 7700 pg/milhão de células, 24 e 72 horas respetivamente, após uma mudança de meio. Verificou-se que a CEA se acumula a mais de 27 ng/milhão de células durante um período de 72 horas.Os estudos de caraterização inicial da linha celular TT foram efectuados utilizando células TT de passagem inicial cultivadas em meio RPMI 1640 suplementado com 15% de soro fetal bovino e 1mM L-glutamina.Não se sabe se os neuropeptídeos produzidos por esta linha celular quando cultivada em meio RPMI 1640 também são produzidos pelas células quando cultivadas em meio Ham's F-12K. A análise cromossómica da linha celular e dos tumores induzidos em ratinhos nus revela um cariótipo humano aneuploide com vários cromossomas marcadores.
Organism	Humano
Tissue	Tiroide, medula
Disease	Carcinoma medular hereditário da glândula tiroide, Neoplasia endócrina múltipla tipo 2
Metastatic site	Não aplicável (carcinoma medular da tiróide hereditário primário; sem metástases à distância documentadas)
Applications	Investigação sobre o carcinoma medular da tiróide; biologia dos tumores neuroendócrinos; estudos sobre a secreção de calcitonina; biologia da MEN2; análise da via do proto-oncogene RET; sensibilidade aos fármacos (cabozantinib, vandetanib, everolimus); investigação sobre biomarcadores neuroendócrinos; desenvolvimento de ensaios de CEA
Synonyms	MTC-TT

Caraterísticas

Age	77 anos
Gender	Feminino
Ethnicity	Europeu
Morphology	De tipo epitelial
Cell type	Células neuroendócrinas (células C / células parafoliculares)
Growth properties	Aderente

Product sheet

Células TT | 305027

Dados regulamentares

Citation	TT (número de catálogo Cytion 305027)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1774
GMO Status	Sem modificação genética; linha celular de carcinoma medular da tiróide hereditário do tipo selvagem

Dados biomoleculares

Protein expression	Calcitonina, Antigénio Carcinoembrionário (CEA)
Tumorigenic	Sim

Manuseamento

Culture Medium	Ham's F12K Medium, com: 2,0 mM L-Glutamina, com: 2,0 mM Piruvato de sódio, com: 2,5 g/L NaHCO3 (número de artigo Cytion 820608a)
Supplements	Suplementar o meio com 10% de FBS, 1% de NEAA e 1mM de piruvato de sódio
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	aprox. 36 a 48 horas
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Split ratio	1 a 3
Seeding density	1 a 3 × 10^4 células/cm^2

Células TT | 305027

Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Post-Thaw Recovery	Após a descongelação, semeie as células a uma densidade de 5×10^4 células/cm^2 e aguarde pelo menos 24 horas para que adiram antes da primeira troca de meio. Nota: A produção de calcitonina pode demorar entre 24 e 72 horas após a descongelação até atingir níveis estáveis de secreção.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.
Thawing and Culturing Cells	1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte. 2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata. 3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo. 4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir. 5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente. 6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual. 7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células. 8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.

Células TT | 305027

Flask Coating	Nenhum
Freezing Procedure	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Shipping Conditions	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility	A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Células TT | 305027

Perfil 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