

Celule TT | 305027

Informații generale

Description	S-a constatat că calcitonina imunoreactivă este produsă în cultura celulară la niveluri de 3900 pg/milion de celule și 7700 pg/milion de celule la 24 și, respectiv, 72 de ore după schimbarea mediului. S-a constatat că CEA se acumulează la mai mult de 27 ng/milion de celule pe o perioadă de 72 de ore. analiza cromozomială a liniei celulare și a tumorilor induse la șoarecii nude relevă un cariotip uman aneuploid cu mai mulți cromozomi marker. Studiile inițiale de caracterizare a liniei celulare TT au fost efectuate utilizând celule TT de pasaj timpuriu cultivate în mediu RPMI 1640 suplimentat cu 15% ser fetal bovin și 1mM L-glutamină. Nu se știe dacă neuropeptidele despre care s-a raportat că sunt produse de această linie celulară atunci când a fost cultivată în mediul RPMI 1640 sunt, de asemenea, produse de celule atunci când acestea sunt cultivate în mediul Ham's F-12K. Analiza cromozomială a liniei celulare și a tumorilor induse la șoarecii nude relevă un cariotip uman aneuploid cu mai mulți cromozomi marker.
Organism	Om
Tissue	Tiroida, măduva
Disease	Carcinom medular ereditar al glandei tiroide, Neoplazie endocrină multiplă de tip 2
Metastatic site	Nu se aplică (carcinom medular tiroidian ereditar primar; fără metastaze la distanță documentate)
Applications	Cercetarea privind carcinomul medular tiroidian; biologia tumorilor neuroendocrine; studii privind secreția de calcitonină; biologia sindromului MEN2; analiza căii protooncogenei RET; sensibilitatea la medicamente (cabozantinib, vandetanib, everolimus); cercetarea privind biomarkerii neuroendocrini; dezvoltarea testului CEA
Synonyms	MTC-TT

Caracteristici

Age	77 de ani
Gender	Femei
Ethnicity	Europeană
Morphology	De tip epitelial
Cell type	Celulele neuroendocrine (celulele C / celulele parafoliculare)
Growth properties	Aderent

Celule TT | 305027

Date de reglementare

Citation	TT (număr de catalog Cytion 305027)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1774
GMO Status	Fără modificări genetice; linie celulară de carcinom tiroidian medular ereditar de tip sălbatic

Date biomoleculare

Protein expression	Calcitonină, antigen carcinoembrionar (CEA)
Tumorigenic	Da

Manipulare

Culture Medium	Mediu Ham's F12K, w: 2,0 mM L-Glutamină, w: 2,0 mM piruvat de sodiu, w: 2,5 g/L NaHCO ₃ (număr articol Cytion 820608a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS, 1% NEAA și 1mM Sodumpyruvat
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	aproximativ 36–48 de ore
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Split ratio	1–3
Seeding density	1 până la 3×10^4 celule/cm ²

Celule TT | 305027

Fluid renewal de 2 până la 3 ori pe săptămână

Post-Thaw Recovery După decongelare, cultivați celulele la o densitate de 5×10^4 celule/cm² și lăsați-le să se adere timp de cel puțin 24 de ore înainte de prima schimbare a mediului de cultură. Notă: Producția de calcitonină poate necesita 24–72 de ore după decongelare înainte de a atinge niveluri stabile de secreție.

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmosferă umidificată.

Flask Coating Niciuna

Celule TT | 305027

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.