

TT-celler | 305027

Allmän information

Description TT-celler producerar kontinuerligt höga nivåer av kalcitonin och CEA. Immunoreaktivt kalcitonin producerades i cellkultur i nivåer på 3900 pg/miljoner celler och 7700 pg/miljoner celler 24 respektive 72 timmar efter ett mediumbyte. CEA ackumulerades till mer än 27 ng/miljoner celler under en 72-timmarsperiod. Kromosomanalys av cellinjen och tumörer inducerade i nakna möss visar en aneuploid human karyotyp med flera markörkromosomer. De första karaktäriseringsstudierna av TT-cellinjen genomfördes med TT-celler från tidig passage som odlades i RPMI 1640-medium kompletterat med 15% fetalt bovint serum och 1mM L-glutamin. Det är inte känt om de neuropeptider som rapporterats produceras av denna cellinje när den odlades i RPMI 1640-medium också produceras av cellerna när de odlas i Ham's F-12K-medium. Kromosomanalys av cellinjen och tumörer inducerade i nakna möss visar en aneuploid human karyotyp med flera markörkromosomer.

Organism Människan

Tissue Sköldkörtel, märg

Disease Ärftlig medullär karcinom i sköldkörteln, multipel endokrin neoplasia typ 2

Metastatic site Ej tillämpligt (primärt ärftligt medullärt sköldkörtelkarcinom; inga dokumenterade fjärrmetastaser)

Applications Forskning om medullärt sköldkörtelkarcinom; biologi hos neuroendokrina tumörer; studier av kalcitonins utsöndring; biologi hos MEN2; analys av RET-proteinkogenets signalväg; läkemedelskänslighet (cabozantinib, vandetanib, everolimus); forskning om neuroendokrina biomarkörer; utveckling av CEA-analysmetoder

Synonyms MTC-TT

Egenskaper

Age 77 år

Gender Kvinna

Ethnicity Europeiska

Morphology Epitelliknande

Cell type Neuroendokrina celler (C-celler / parafollikulära celler)

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

TT-celler | 305027

Citation	TT (Cytion katalognummer 305027)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1774
GMO Status	Ingen genetisk modifiering; vildtyp av en cellinje från ärftligt medullärt sköldkörtelkarcinom

Biomolekylära data

Protein expression	Kalcitonin, Carcinoembryonalt antigen (CEA)
Tumorigenic	Ja

Hantering

Culture Medium	Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,5 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820608a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS, 1% NEAA och 1mM Sodiumpyruvat
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	ca 36 till 48 timmar
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
Split ratio	1 till 3
Seeding density	1 till 3×10^4 celler/cm ²
Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka

TT-celler | 305027

Post-Thaw Recovery

Efter upptining ska cellerna odlas med en täthet på 5×10^4 celler/cm² och få fästa i minst 24 timmar innan det första medelbytet. Obs! Det kan ta 24–72 timmar efter upptining innan kalcitoninproduktionen når stabila utsöndringsnivåer.

Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeskuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

TT-celler | 305027

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasma diagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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