

## TT bunky | 305027

## Všeobecné informácie

<b>Description</b>	Zistilo sa, že imunoreaktívny kalcitonín sa v bunkovej kultúre produkuje na úrovni 3900 pg/milión buniek a 7700 pg/milión buniek 24 a 72 hodín po výmene média. Zistilo sa, že CEA sa akumuluje na viac ako 27 ng/milión buniek počas 72 hodín. Chromozomálna analýza bunkovej línie a nádorov vyvolaných u nahých myší odhalila aneuploidný ľudský karyotyp s niekoľkými markerovými chromozómami. Počiatočné charakterizačné štúdie bunkovej línie TT sa uskutočnili s použitím buniek TT v ranom štádiu kultivácie v médiu RPMI 1640 doplnenom 15 % fetálnym hovädzím sérom a 1 mM L-glutamínom. Nie je známe, či neuropeptidy, o ktorých sa uvádza, že ich táto bunková línia produkuje pri pestovaní v médiu RPMI 1640, produkujú aj bunky kultivované v médiu Ham's F-12K. Chromozomálna analýza bunkovej línie a nádorov vyvolaných u nahých myší odhalila aneuploidný ľudský karyotyp s niekoľkými markerovými chromozómami.
<b>Organism</b>	Ľudské
<b>Tissue</b>	Štítna žľaza, dreň
<b>Disease</b>	Hereditárny medulárny karcinóm štítnej žľazy, mnohopočetná endokrinná neoplázia typu 2
<b>Metastatic site</b>	Neplatí (primárny hereditárny medulárny karcinóm štítnej žľazy; žiadne zdokumentované vzdialené metastázy)
<b>Applications</b>	Výskum medulárneho karcinómu štítnej žľazy; biológia neuroendokrinných nádorov; štúdie sekrécie kalcitonínu; biológia MEN2; analýza signálnej dráhy protoonkogénu RET; citlivosť na lieky (kabozantinib, vandetanib, everolimus); výskum neuroendokrinných biomarkerov; vývoj testu na CEA
<b>Synonyms</b>	MTC-TT

## Charakteristika

<b>Age</b>	77 rokov
<b>Gender</b>	Ženy
<b>Ethnicity</b>	Európska
<b>Morphology</b>	Epitelu podobné
<b>Cell type</b>	Neuroendokrinné bunky (C-bunky / parafolikulárne bunky)
<b>Growth properties</b>	Adherent

## Regulačné údaje

## TT bunky | 305027

<b>Citation</b>	TT (katalógové číslo Cytion 305027)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1774
<b>GMO Status</b>	Bez genetickej modifikácie; bunková línia dedičného medulárneho karcinómu štítnej žľazy divokého typu

## Biomolekulárne údaje

<b>Protein expression</b>	Kalcitonín, karcinoembryonálny antigén(CEA)
<b>Tumorigenic</b>	Áno

## Spracovanie

<b>Culture Medium</b>	Hamovo médium F12K, w: 2,0 mM L-glutamín, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,5 g/l NaHCO <sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820608a)
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 10% FBS, 1% NEAA a 1mM Sodumpyruvat
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	približne 36 až 48 hodín
<b>Subculturing</b>	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
<b>Split ratio</b>	1 až 3
<b>Seeding density</b>	1 až 3 × 10 <sup>4</sup> buniek/cm <sup>2</sup>

## TT bunky | 305027

**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne

**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste bunky na kultivačné misky v hustote  $5 \times 10^4$  buniek/cm<sup>2</sup> a pred prvou výmenou živného média počkajte aspoň 24 hodín, aby sa bunky priľnuli. Poznámka: Na dosiahnutie stabilnej úrovne sekrécie kalcitonínu môže byť potrebných 24–72 hodín po rozmrazení.

**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating** Žiadne

## TT bunky | 305027

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.