

## TT celice | 305027

## Splošne informacije

<b>Description</b>	Celice TT nenehno proizvajajo visoke ravni kalcitonina in CEA. Ugotovljeno je bilo, da se v celični kulturi po 24 oziroma 72 urah po menjavi gojišča proizvaja imunoreaktivni kalcitonin na ravni 3900 pg/milijon celic in 7700 pg/milijon celic. CEA se v 72 urah kopiči na več kot 27 ng/milijon celic. Kromosomska analiza celične linije in tumorjev, povzročenih pri golih miših, kaže aneuploidni človeški kariotip z več označevalnimi kromosomi. Začetne študije karakterizacije celične linije TT so bile izvedene z uporabo zgodnjih celic TT, gojenih v gojišču RPMI 1640, dopolnjenem s 15 % fetalnega govejega seruma in 1 mM L-glutamina. Ni znano, ali neuropeptide, ki naj bi jih ta celična linija proizvajala pri gojenju v gojišču RPMI 1640, celice proizvajajo tudi pri gojenju v gojišču Ham's F-12K. Kromosomska analiza celične linije in tumorjev, povzročenih pri golih miših, kaže aneuploidni človeški kariotip z več označevalnimi kromosomi.
<b>Organism</b>	Človek
<b>Tissue</b>	Ščitnica, medula
<b>Disease</b>	Dedni medularni karcinom ščitnice, multipla endokrina neoplazija tipa 2
<b>Metastatic site</b>	Ne velja (primarni hereditni medularni karcinom ščitnice; ni dokumentiranih oddaljenih metastaz)
<b>Applications</b>	Raziskave medularnega karcinoma ščitnice; biologija neuroendokrinih tumorjev; študije izločanja kalcitonina; biologija sindroma MEN2; analiza poti protoonkogene RET; občutljivost na zdravila (kabozantinib, vandetanib, everolimus); raziskave neuroendokrinih biomarkerjev; razvoj testa za CEA
<b>Synonyms</b>	MTC-TT

## Značilnosti

<b>Age</b>	77 let
<b>Gender</b>	Ženske
<b>Ethnicity</b>	Evropski
<b>Morphology</b>	Epitelijam podobni
<b>Cell type</b>	Neuroendokrine celice (C-celice / parafolikularne celice)
<b>Growth properties</b>	Pripadajoče

## Regulativni podatki

## TT celice | 305027

<b>Citation</b>	TT (kataloška številka Cytion 305027)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1774
<b>GMO Status</b>	Brez genske modifikacije; celična linija dednega medularnega karcinoma ščitnice divjega tipa

## Biomolekularni podatki

<b>Protein expression</b>	Kalcitonin, karcinoembrionalni antigen (CEA)
<b>Tumorigenic</b>	Da

## Ravnanje s spletno stranjo

<b>Culture Medium</b>	Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-glutamin, w: 2,0 mM natrijev piruvat, w: 2,5 g/L NaHCO <sub>3</sub> (številka izdelka Cytion 820608a)
<b>Supplements</b>	Gojišče dopolnite z 10 % FBS, 1 % NEAA in 1 mM natrijevega piruvata
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	približno 36 do 48 ur
<b>Subculturing</b>	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
<b>Split ratio</b>	1 do 3
<b>Seeding density</b>	1 do 3 × 10 <sup>4</sup> celic/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 do 3-krat na teden

## TT celice | 305027

### Post-Thaw Recovery

Po odmrznitvi celice posadite v gostoti  $5 \times 10^4$  celic/cm<sup>2</sup> in jim pred prvo zamenjavo gojišča pustite vsaj 24 ur časa za prirast. Opomba: Proizvodnja kalcitonina lahko traja 24–72 ur po odmrznitvi, preden se dosežejo stabilne ravni izločanja.

### Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, vlažno ozračje.

### Flask Coating

Nič

## TT celice | 305027

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Shranjevanje pri  $-80^{\circ}\text{C}$  je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.