

Клітини ТТ | 305027

Загальна інформація

Description	Імунореактивний кальцитонін виробляється в культурі клітин на рівні 3900 пг/млн. клітин і 7700 пг/млн. клітин через 24 і 72 години після зміни середовища, відповідно. Імунореактивний кальцитонін накопичується до 27 нг/млн. клітин протягом 72 годин. Хромосомний аналіз клітинної лінії і пухлин, індукованих у голих мишей, виявив анеуплоїдний каріотип людини з декількома маркерними хромосомами. Початкові дослідження клітинної лінії ТТ були проведені з використанням клітин ТТ раннього пасажу, культивованих у середовищі RPMI 1640 з додаванням 15% фетальної сироватки великої рогатої худоби та 1 мМ L-глутаміну. Невідомо, чи нейропептиди, які, як повідомлялося, продукуються цією клітинною лінією при вирощуванні в середовищі RPMI 1640, також продукуються клітинами при культивуванні в середовищі Ham's F-12K. Хромосомний аналіз клітинної лінії та пухлин, індукованих у голих мишей, виявив анеуплоїдний каріотип людини з кількома маркерними хромосомами.
Organism	Людина
Tissue	Щитовидна залоза, головний мозок
Disease	Спадкова медулярна карцинома щитоподібної залози, Множинна ендокринна неоплазія 2 типу
Metastatic site	Не стосується (первинна спадкова медулярна карцинома щитоподібної залози; відсутність задокументованих віддалених метастазів)
Applications	Дослідження медулярної карциноми щитоподібної залози; біологія нейроендокринних пухлин; дослідження секреції кальцитоніну; біологія синдрому MEN2; аналіз шляху дії протоонкогену RET; чутливість до лікарських препаратів (кабозантиніб, вандетаніб, еверолімус); дослідження нейроендокринних біомаркерів; розробка методів визначення CEA
Synonyms	МТС-ТТ

Характеристики

Age	77 років
Gender	Жінка
Ethnicity	Європейський
Morphology	Епітеліальноподібні
Cell type	Нейроендокринні клітини (С-клітини / парафолікулярні клітини)
Growth properties	Адепт

Клітини TT | 305027

Нормативні дані

Citation	TT (номер за каталогом 305027)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1774
GMO Status	Без генетичної модифікації; клітинна лінія спадкової медулярної карциноми щитоподібної залози дикого типу

Біомолекулярні дані

Protein expression	Кальцитонін, карциноембріональний антиген (CEA)
Tumorigenic	Так

Обробка

Culture Medium	Середовище Ham's F12K, w: 2,0 мМ L-глутамін, w: 2,0 мМ піруват натрію, w: 2,5 г/л NaHCO ₃ (цит. номер 820608a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS, 1% NEAA та 1 мМ натрійпірувату
Dissociation Reagent	Аккутаза
Doubling time	приблизно від 36 до 48 годин
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Split ratio	від 1 до 3

Клітини TT | 305027

Seeding density від 1 до 3×10^4 клітин/см²

Fluid renewal 2-3 рази на тиждень

Post-Thaw Recovery Після розморожування висійте клітини з щільністю 5×10^4 клітин/см² і дайте їм прикріпитися протягом щонайменше 24 годин перед першою заміною середовища. Примітка: для досягнення стабільного рівня секреції кальцитоніну може знадобитися 24–72 години після розморожування.

Freeze medium Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антисептиком при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Клітини ТТ | 305027

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, волога атмосфера.

Flask Coating Ні

Freezing Procedure Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.