

Клетки на GCT | 300155

Обща информация

Description

Клетъчната линия GCT, произхождаща от гигантски клетъчен тумор (GCT), изолиран от белия дроб на възрастен пациент от мъжки пол с фиброзен хистиоцитом, е известна със силната си биологична активност в областта на медицинските изследвания. Тази линия произвежда колониално стимулираща активност (CSA) за човешките гранулоцитни прекурсори и еритропоетин-подобна еритроидна активност (ЕЕА) за еритроидните прекурсори, което я прави безценна за изучаване на регулацията и развитието на хемопоеичните клетки. Гранулоцитните и еритроидните прекурсори, към които са насочени продуктите на клетъчната линия GCT, са от ключово значение за разбирането на процеси като функцията на неутрофилите в имунния отговор и образуването на червени кръвни клетки.

Освен това средата, кондиционирана от тази клетъчна линия, е значителен източник на простагландин Е и плазминогенен активатор. Тези вещества имат решаваща роля във възпалителните реакции и съответно във фибринолитичния път. Простагландин Е е от съществено значение за възпалителната модулация и поддържането на физиологичното равновесие, докато плазминогенният активатор допринася за разтварянето на кръвните съсиреци. Наличието на тези фактори в кондиционираната среда на клетъчната линия GCT подчертава нейния потенциал за разработване на терапевтични стратегии, насочени към сърдечносъдови заболявания и състояния, свързани с прекомерно образуване на съсиреци и възпаление.

Organism

Човек

Tissue

Бял дроб

Disease

Недиференциран плеоморфен сарком

Metastatic site

Плеврален излив

Synonyms

Гигантски клетъчен тумор

Характеристики

Age

29 години

Gender

Мъжки

Growth properties

Придържачи се

Регулаторни данни

Citation

GCT (каталожен номер 300155 на Cytion)

Клетки на GCT | 300155

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1229

Биомолекуларни данни

Работа с

Culture Medium	McCoy's 5a, w: 3,0 g/L глюкоза, w: стабилен глутамин, w: 2,0 mM натриев пируват, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820200a)
-----------------------	---

Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
--------------------	-----------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
---------------------	---

Seeding density	1 до 2×10^4 клетки/cm ²
------------------------	---

Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
----------------------	----------------------

Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/cm ² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
---------------------------	---

Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.
----------------------	---

Клетки на GCT | 300155

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки на GCT | 300155

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

A*: '01:01:01, '23:01:01
B*: '08:01:01, '15:17:01
C*: '07:01:01, '07:01:02
DRB1*: '03:01:01, '04:04:01
DQA1*: '03:01:01, '05:01:01
DQB1*: '02:01:01, '03:02:01
DPB1*: '01:01:01, '02:01:02
E: '01:01:01, '01:03:05