

GCT rakud | 300155

Üldine teave

Description

GCT rakuliin, mis pärineb täiskasvanud meessoost fibroosse histiotsütoomiga patsiendi kopsust isoleeritud hiiglasliku raku kasvajast (GCT), on tuntud oma tugeva bioloogilise aktiivsuse poolest meditsiiniuuringute valdkonnas. See liin toodab inimese granulotsüütide eellaste kolooniaid stimuleerivat aktiivsust (CSA) ja erütropoetiinilaadset erütroidset aktiivsust (EEA), mis muudab selle hindamatuks vereloome rakkude regulatsiooni ja arengu uurimiseks. Granulotsüütide ja erütroidide eelkäijad, millele GCT rakuliini tooted on suunatud, on võtmetähtsusega selliste protsesside mõistmiseks nagu neutrofiilide funktsioon immuunvastuses ja punaste vererakkude moodustamine.

Lisaks sellele on selle rakuliini poolt konditsioneeritud keskkond oluline prostaglandiin E ja plasminogeeni aktivaatori allikas. Need ained mängivad otsustavat rolli vastavalt põletikureaktsioonis ja fibrinolüütilises rajas. Prostaglandiin E on oluline põletiku moduleerimiseks ja füsioloogilise tasakaalu säilitamiseks, samas kui plasminogeeni aktivaator aitab kaasa verehüüvete lahustumisele. Nende tegurite olemasolu GCT rakuliini konditsioneeritud keskkonnas rõhutab selle potentsiaali terapeutiliste strateegiade väljatöötamisel, mis on suunatud südame-veresoonkonna haiguste ja liigse trombide moodustumise ja põletikuga seotud seisundite raviks.

Organism Inimene

Tissue Kopsud

Disease Diferentseerimata pleomorfne sarkoom

Metastatic site Pleuraefusioon

Synonyms Hiidrakuline kasvaja

Omadused

Age 29 aastat

Gender Mees

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation GCT (Cytioni katalooginumber 300155)

Biosafety level 1

GCT rakud | 300155

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1229

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L glükoos, w: stabiilne glutamiin, w: 2,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820200a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 1 kuni 2×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

GCT rakud | 300155

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

GCT rakud | 300155

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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