

GCT sejtek | 300155

Általános információk

Description

A GCT sejtvonal, amely egy felnőtt férfi fibrous histiocytomás beteg tüdejéből izolált óriássejtes tumorból (GCT) származik, az orvosi kutatások területén híres robusztus biológiai aktivitásáról. Ez a vonal kolónia-stimuláló aktivitást (CSA) termel az emberi granulocita prekursorok számára és eritropoetin-szerű eritroid aktivitást (EEA) az eritroid prekursorok számára, ami felbecsülhetlenné teszi a vérképző sejtek szabályozásának és fejlődésének tanulmányozásához. A GCT sejtvonal termékei által megcélzott granulocita és eritroid prekursorok kulcsfontosságúak az olyan folyamatok megértéséhez, mint a neutrofilek működése az immunválaszban, illetve a vörösvértestek képződése.

Ezenkívül az e sejtvonal által kondicionált közeg jelentős forrása a prosztaglandin-E-nek és a plazminogén-aktivátornak. Ezek az anyagok döntő szerepet játszanak a gyulladásos válaszokban, illetve a fibrinolitikus útvonalban. A prosztaglandin E nélkülözhetetlen a gyulladásos modulációhoz és az élettani egyensúly fenntartásához, míg a plazminogén-aktivátor hozzájárul a vérrögök feloldásához. Ezeknek a faktoroknak a jelenléte a GCT sejtvonal kondicionált médiumában aláhúzza annak lehetőségét a kardiovaszkuláris betegségeket és a túlzott vérrögeképződéssel és gyulladással kapcsolatos állapotokat kezelő terápiás stratégiák kifejlesztésére.

Organism Emberi

Tissue Tüdő

Disease Nem differenciált pleomorf szarkóma

Metastatic site Mellhártya folyadékgyülem

Synonyms Óriássejtes daganat

Jellemzők

Age 29 év

Gender Férfi

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation GCT (Cytion katalógusszám: 300155)

Biosafety level 1

GCT sejtek | 300155

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1229

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/L glükóz, w: stabil glutamin, w: 2,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion cikkszám: 820200a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Seeding density** 1-2 x 10⁴ sejt/cm²**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Post-Thaw Recovery** Felolvasztás után helyezze a sejteket 5 x 10⁴ sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

GCT sejtek | 300155

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

GCT sejtek | 300155

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 °C és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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