

GCT ląstelės | 300155

Bendra informacija

Description

GCT ląstelių linija, kilusi iš gigantinių ląstelių naviko (GCT), išskirto iš suaugusio vyro, sergančio fibrozine histiocitoma, plaučių, garsėja savo stipriu biologiniu aktyvumu medicininių tyrimų srityje. Ši linija gamina kolonijas stimuliuojantį aktyvumą (CSA) žmogaus granulocitų pirtakams ir į eritropoetiną panašų eritroidinį aktyvumą (EEA) eritroidiniams pirtakams, todėl yra neįkainojama tiriant kraujodaros ląstelių reguliavimą ir vystymąsi. Granulocitų ir eritroidinių pirtakų, į kuriuos nukreipti GCT ląstelių linijos produktai, veikla yra labai svarbi norint suprasti tokius procesus, kaip neutrofilų funkcija imuniniame atsako procese ir raudonųjų kraujo kūnelių formavimasis.

Be to, šios ląstelių linijos kondicionuojama terpė yra svarbus prostaglandino E ir plazminogeno aktyvatoriaus šaltinis. Šios medžiagos vaidina svarbų vaidmenį uždegiminėse reakcijose ir fibrinolitininiame kelyje. Prostaglandinas E yra būtinas uždegimo moduliacijai ir fiziologinei pusiausvyrai palaikyti, o plazminogeno aktyvatorius padeda tirpdyti kraujo krešulius. Šių veiksmų buvimas GCT ląstelių linijos kondicionuojamoje terpėje pabrėžia jos potencialą kuriant terapines strategijas, skirtas širdies ir kraujagyslių ligoms ir būklėms, susijusioms su pernelyg dideliu krešulių susidarymu ir uždegimu, gydyti.

Organism

Žmogus

Tissue

Plaučiai

Disease

Nediferencijuota pleomorfinė sarkoma

Metastatic site

Pleuros išskyros

Synonyms

Milžiniškas ląstelių navikas

Charakteristikos

Age

29 metai

Gender

Vyras

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation

GCT (Cytion katalogo numeris 300155)

Biosafety level

1

GCT ląstelės | 300155

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1229

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium McCoy's 5a, w: 3,0 g/l gliukozės, w: stabilus glutaminas, w: 2,0 mM natrio piruvatas, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820200a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Seeding density $1-2 \times 10^4$ ląstelės/cm²

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Post-Thaw Recovery Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

GCT ląstelės | 300155

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

GCT ląstelės | 300155

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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