

GCT šūnas | 300155

Vispārīga informācija

Description

GCT šūnu līnija, kas iegūta no milzu šūnu audzēja (GCT), kurš izolēts no plaušām pieaugušam vīrietim ar fibrozu histiocitomu, ir pazīstama ar savu spēcīgo bioloģisko aktivitāti medicīnas pētījumu jomā. Šī līnija rada koloniju stimulējošo aktivitāti (CSA) cilvēka granulocītu prekursoriem un eritropoētīnam līdzīgo eritroīdu aktivitāti (EEA) eritroīdu prekursoriem, padarot to nenovērtējamu asinsrades šūnu regulācijas un attīstības izpētē. Granulocītu un eritroīdu prekursori, uz kuriem ir vērsti GCT šūnu līnijas produkti, ir būtiski, lai izprastu tādu procesus kā neitrofilu funkcija imūnā reakcijā un eritrocītu veidošanās.

Turklāt šīs šūnu līnijas kondicionētā barotne ir nozīmīgs prostaglandīna E un plazminogēna aktivatora avots. Šīm vielām ir izšķiroša nozīme attiecīgi iekaisuma reakcijās un fibrinolītiskajā ceļā. Prostaglandīns E ir būtisks iekaisuma modulācijai un fizioloģiskā līdzsvara uzturēšanai, bet plazminogēna aktivators veicina asins recekļu šķīdināšanu. Šo faktoru klātbūtne GCT šūnu līnijas kondicionētajā barotnē uzsver tās potenciālu terapeitisko stratēģiju izstrādē, lai risinātu sirds un asinsvadu slimību un stāvokļu, kas saistīti ar pārmērīgu trombu veidošanos un iekaisumu, problēmas.

Organism Cilvēks

Tissue Plaušas

Disease Nediferencēta pleomorfa sarkoma

Metastatic site Pleiras izsvīdums

Synonyms Milzu šūnu audzējs

Raksturojums

Age 29 gadi

Gender Vīrieši

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation GCT (Cytion kataloga numurs 300155)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

GCT šūnas | 300155

CellosaurusAccession CVCL_1229

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/l glikoze, w: stabils glutamīns, w: 2,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820200a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density 1 līdz 2×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

GCT šūnas | 300155

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

GCT šūnas | 300155

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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