

GCT-celler | 300155

Generell informasjon

Description

GCT-cellelinjen, som stammer fra en kjempecelletumor (GCT) isolert fra lungen til en voksen mannlig pasient med fibrøst histiocytom, er kjent for sin robuste biologiske aktivitet innen medisinsk forskning. Denne linjen produserer kolonistimulerende aktivitet (CSA) for humane granulocytforløpere og erythropoietinlignende erytroidaktivitet (EEA) for erytroidforløpere, noe som gjør den uvurderlig for studier av regulering og utvikling av hematopoietiske celler. Granulocyt- og erytroidforløperne som produktene fra GCT-cellelinjen retter seg mot, er viktige for å forstå prosesser som nøytrofile funksjoner i henholdsvis immunresponsen og dannelsen av røde blodlegemer.

I tillegg er mediet som denne cellelinjen kondisjonerer, en viktig kilde til prostaglandin E og plasminogenaktivator. Disse stoffene spiller en avgjørende rolle i henholdsvis betennelsesreaksjoner og den fibrinolytiske prosessen. Prostaglandin E er avgjørende for inflammatorisk modulering og opprettholdelse av fysiologisk balanse, mens plasminogenaktivator bidrar til oppløsning av blodpropper. Tilstedeværelsen av disse faktorene i GCT-cellelinjens kondisjonerte medium understreker cellelinjens potensial for å utvikle terapeutiske strategier rettet mot hjerte- og karsykdommer og tilstander som er relatert til overdreven blodproppdannelse og inflammasjon.

Organism

Menneskelig

Tissue

Lunge

Disease

Udifferensiert pleomorft sarkom

Metastatic site

Pleuraeffusjon

Synonyms

Kjempecelletumor

Kjennetegn

Age

29 år

Gender

Mann

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

GCT (Cytion-katalognummer 300155)

Biosafety level

1

GCT-celler | 300155

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1229

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium McCoys 5a, m: 3,0 g/L glukose, m: stabil glutamin, m: 2,0 mM natriumpyruvat, m: 2,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820200a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** Et forhold på 1:2 til 1:4 anbefales**Seeding density** 1 til 2×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Post-Thaw Recovery** Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

GCT-celler | 300155

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

GCT-celler | 300155

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12
D13S317: 11,12
D16S539: 9
D5S818: 13,15
D7S820: 11,12
TH01: 8,9.3
TPOX: 8,9
vWA: 16,18
D3S1358: 16,17
FGA: 28
D1S1656: 17,19
D6S1043: 12,13
D2S1338: 12
D12S391: 11,13
D19S433: 21

HLA-alleler

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