

**Komórki G-361 | 302157****Informacje ogólne****Description**

G-361 to ludzka linia komórkowa czerniaka pochodząca z przerzutów w skórze dorosłego pacjenta. Ta linia komórkowa wykazuje produkcję melaniny, która jest charakterystyczną cechą melanocytów i komórek czerniaka. Komórki G-361 są znane ze swojej morfologii przypominającej nabłonek i są szeroko stosowane w badaniach nad rakiem skóry, w szczególności czerniakiem. Komórki te są cenne w badaniu biologii i patogenezy czerniaka, w tym proliferacji komórek, migracji i inwazji. Ponadto służą one jako użyteczny model do badań przesiewowych leków i do zrozumienia mechanizmów oporności czerniaka na chemioterapię.

Linia komórkowa G-361 została wykorzystana do zbadania genetycznych i molekularnych podstaw czerniaka. Odegrała ona kluczową rolę w badaniach nad rolą różnych onkogenów i genów supresorowych nowotworów w progresji raka. Na przykład, badania wykorzystujące komórki G-361 przyczyniły się do wglądu w szlak MAPK/ERK, który jest często rozregulowany w czerniaku. Komórki te są również powszechnie wykorzystywane w testach do oceny skuteczności nowych środków terapeutycznych, co czyni je kluczowymi dla badań translacyjnych i rozwoju ukierunkowanych terapii czerniaka.

**Organism** Człowiek**Tissue** Skóra**Disease** Czerniak**Synonyms** G-361, G361-mel, G361mel**Charakterystyka****Age** 31 lat**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Europejski**Morphology** Nabłonek**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** G-361 (numer katalogowy Cytion 302157)**Biosafety level** 1

**Komórki G-361 | 302157****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1220**Dane biomolekularne****Isoenzymes** G6PD, B**Products** Melanina**Obsługa****Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukozy, w: stabilna glutamina, w: 2,0 mM pirogronianu sodu, w: 2,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820200a)**Supplements** Uzpełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** 1:2 do 1:4**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

## Komórki G-361 | 302157

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki G-361 | 302157

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Przechowywanie w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.