

Komórki GCT | 300155**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa GCT, pochodząca z guza olbrzymiokomórkowego (GCT) wyizolowanego z płuca dorosłego mężczyzny z histiocytomą włóknistą, jest znana ze swojej silnej aktywności biologicznej w dziedzinie badań medycznych. Linia ta wytwarza aktywność stymulującą kolonie (CSA) dla ludzkich prekursorów granulocytów i aktywność erytroidalną podobną do erytropoetyny (EEA) dla prekursorów erytroidalnych, co czyni ją nieocenioną do badania regulacji i rozwoju komórek krwiotwórczych. Prekursory granulocytów i erytroidów, na które ukierunkowane są produkty linii komórkowej GCT, mają kluczowe znaczenie dla zrozumienia procesów, takich jak odpowiednio funkcja neutrofilów w odpowiedzi immunologicznej i tworzenie czerwonych krwinek.

Dodatkowo, pożywka kondycjonowana przez tę linię komórkową jest znaczącym źródłem prostaglandyny E i aktywatora plazminogenu. Substancje te odgrywają kluczową rolę w odpowiedzi zapalnej i szlaku fibrynolitycznym. Prostaglandyna E jest niezbędna do modulacji stanu zapalnego i utrzymania równowagi fizjologicznej, podczas gdy aktywator plazminogenu przyczynia się do rozpuszczania skrzepów krwi. Obecność tych czynników w pożywce kondycjonowanej linii komórkowej GCT podkreśla jej potencjał w zakresie opracowywania strategii terapeutycznych dotyczących chorób sercowo-naczyniowych i stanów związanych z nadmiernym tworzeniem się skrzepów i stanem zapalnym.

Organism Człowiek**Tissue** Płuco**Disease** Niezróżnicowany mięsak pleomorficzny**Metastatic site** Wysiłek opłucnowy**Synonyms** Guz olbrzymiokomórkowy**Charakterystyka****Age** 29 lat**Gender** Męczyzna**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** GCT (numer katalogowy Cytion 300155)**Biosafety level** 1

Komórki GCT | 300155

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1229

Dane biomolekularne

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 NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820200a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń 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. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:4**Seeding density** 1 do 2×10^4 komórek/cm²**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.**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 GCT | 300155

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°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°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°C , 5% 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°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki GCT | 300155**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°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 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone 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.

Profil STR

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

Allele HLA

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