

Клетки GIMEN | 300179

Обща информация

Description

Клетъчната линия GIMEN е получена от метастаза в костния мозък на малко дете, диагностицирано с невробластом в IV стадий. Тези клетки са класифицирани като N-тип, което обикновено показва невробластен фенотип, характеризиращ се с висока клетъчна плътност, невронни свойства и способност за обширно разрастване на неврити в култура. Създаването на клетъчната линия GIMEN осигурява ценен модел за изучаване на молекулярните и клетъчните механизми, които са в основата на агресивните форми на невробластом, особено тези, свързани с метастатично разпространение.

Във функционално отношение клетките GIMEN проявяват забележителни взаимодействия с различни цитокини и растежни фактори. По-конкретно, техният растеж се потиска от интерферон-гама (IFN-гама) - цитокин, известен с антипролиферативния си ефект върху някои ракови клетки. Освен това, фибробластният растежен фактор-2 (FGF-2) демонстрира антимитогенен ефект върху тези клетки, който може да бъде обърнат чрез добавяне на IFN-гамма. Този обрат предполага сложно взаимодействие между тези фактори при модулирането на клетъчната пролиферация. Освен това интерлевкин-1 бета (IL-1 бета) засилва антимитогенния ефект на FGF-2, което показва потенциалната му роля в регулирането на динамиката на туморния растеж в микросредата на невробластома. Тези взаимодействия подчертават полезността на клетъчната линия GIMEN за изследване на влиянието на цитокините и растежните фактори върху прогресията на невробластома и отговора към терапията.

Organism

Човек

Tissue

Мозък

Disease

Невробластом

Metastatic site

Костен мозък

Synonyms

Gi-ME-N, Gi-MEN, GI-ME-N, Gimen, Gimen1, Gaslini Institute-ME-Neuroblastoma

Характеристики

Age

3,5 години

Gender

Жена

Ethnicity

Кавказки

Morphology

Подобни на епител

Growth properties

Придържащи се

Клетки GIMEN | 300179

Регулаторни данни

Citation	GIMEN (каталожен номер 300179 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1232

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	25 часа
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	2 до 3 x 10 ⁴ клетки/cm ²
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки GIMEN | 300179

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки GIMEN | 300179

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

A*: '02:01:01, '30:01:01
B*: '13:02:01, '18:01:01
C*: '06:02:01, '07:01:09
DRB1*: '04:03:01, '07:01:01
DQA1*: '02:01:01, '03:01:01
DQB1*: '02:02:01, '03:02:01
DPB1*: '02:01:02
E: '01:01:01, '01:xx