Product sheet

Buňky IMR-32 | 300148

Obecné informace

Description	IMR-32 je lidská neuroblastomová buněčná linie odvozená z dřeně nadledvin dítěte s diagnózou neuroblastomu, zhoubného nádoru vycházejícího z buněk nervového hřebene. Tyto buňky vykazují vlastnosti nezralých neuronálních buněk, což z nich činí cenný model pro studium diferenciace neuronů, patogeneze neuroblastomu a molekulárních mechanismů, které jsou základem neurovývojových procesů. Buňky IMR-32 mají vysokou schopnost proliferace a zachovávají si schopnost syntetizovat katecholaminy, zejména dopamin a noradrenalin, které jsou základními neurotransmitery v nervovém systému. Buňky IMR-32 vykazují diploidní karyotyp se specifickými chromozomálními aberacemi, které jsou běžně spojovány s neuroblastomem, jako je amplifikace onkogenu MYCN. Tato vlastnost je činí obzvláště užitečnými pro výzkum genetických a molekulárních příčin neuroblastomu, včetně úlohy MYCN v nádorovém bujení a progresi. Kromě toho se buňky IMR-32 využívají při testování léků pro hodnocení účinnosti a cytotoxicity potenciálních terapeutických látek zaměřených na neuroblastom. Je však nezbytné poznamenat, že tyto buňky jsou určeny výhradně pro výzkumné účely in vitro a nejsou vhodné pro jakékoli terapeutické nebo in vivo aplikace.
Organism	Člověk
Tissue	Mozek
Disease	Neuroblastom
Metastatic site	Břicho
Synonyms	IMR 32, IMR32, Institute for Medical Research-32, GM03320, GM3320C, GM03320D, AG03320, AG3320

Charakteristika

Age	13 měsíců
Gender	Muži
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Fibroblastům podobné
Cell type	Neuroblast
Growth properties	Adherentní

Product sheet

Buňky IMR-32 | 300148

Regulační údaje

Citation	IMR-32 (katalogové číslo Cytion 300148)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0346

Biomolekulární data

Isoenzymes	G6PD, B
Virus susceptibility	Vesikulární stomatitida (Indiana), herpes simplex, vakcína, coxsackievirus B3, poliovirus 3 (slabě)
Virus resistance	Echovirus 11
Reverse transcriptase	Negativní

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO3, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:3 až 1:6

Buňky IMR-32 | 300148

Seeding density	1 x 10^4 buněk/cm^2
Fluid renewal	Každých 3 až 5 dní
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10^4 buněk/cm^2 a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.

Buňky IMR-32 | 300148

Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.
Profil STR	**Amelogenin**: x,y **CSF1PO**: 11,12 **D13S317**: 9 **D16S539**: 8 **D5S818**: 11,12 **D7S820**: 9,10 **TH01**: 7,9.3 **TPOX**: 11 **vWA**: 15 **D3S1358**: 16 **D21S11**: 30,31 **D18S51**: 12,15 **Penta E**: 7,15 **Penta D**: 11,12 **D8S1179**: 13 **FGA**: 21,24 **D1S1656**: 17,17.3 **D6S1043**: 14,18 **D2S1338**: 23,24 **D12S391**: 19.3,23 **D19S433**: 14,15

Buňky IMR-32 | 300148

Alely HLA	**A***: '02:01:01, '24:02:01 **B***: '07:02:01, '15:01:01 **C***: '03:03:01, '07:02:01 **DRB1***: '07:01:01, '13:01:01 **DQA1***: '01:03:01, '02:01:01 **DQB1***: '03:03:02, '06:03:01 **DPB1***: '02:01:02, '04:01:01 **E**: '01:01, '01:03