

IMR-32 rakud | 300148

Üldine teave

Description

IMR-32 on inimese neuroblastoomi rakuliin, mis on saadud neuroblastoomi (närviraku rakkudest alguse saanud pahaloomuline kasvaja) diagnoosiga lapse neerukelmest. Nendel rakkudel on ebaküpsete neuronaalsete rakkude omadused, mis teeb neist väärtusliku mudeli neuronaaalse diferentseerumise, neuroblastoomi patogeneesi ja neuroarenguprotsesside aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide uurimiseks. IMR-32 rakkudel on suur proliferatsioonivõime ja nad säilitavad võime sünteesida katehhoolamiine, eelkõige dopamiini ja noradrenaliini, mis on närvisüsteemi olulised neurotransmitterid.

IMR-32 rakkudel on diploidne karüotüüp koos spetsiifiliste kromosoomiberratsioonidega, mida tavaliselt seostatakse neuroblastoomiga, näiteks MYCN-onkogeeni amplifikatsioon. See omadus muudab nad eriti kasulikuks neuroblastoomi geneetiliste ja molekulaarsete tegurite, sealhulgas MYCNi rolli uurimiseks kasvaja tekkimisel ja progresseerumisel. Lisaks kasutatakse IMR-32 rakke ravimite sõeluuringutes, et hinnata neuroblastoomi vastu suunatud potentsiaalsete raviainete tõhusust ja tsütotoksilisust. Siiski on oluline märkida, et need rakud on mõeldud üksnes in vitro uuringute jaoks ning ei sobi terapeutilisteks või in vivo rakendusteks.

Organism

Inimene

Tissue

Aju

Disease

Neuroblastoom

Metastatic site

Kõhu

Synonyms

IMR 32, IMR32, Meditsiiniuuringute Instituut-32, GM03320, GM3320C, GM03320D, AG03320, AG3320

Omadused

Age

13 kuud

Gender

Mees

Ethnicity

Kaukaasia

Morphology

Fibroblastilaadsed

Cell type

Neuroblast

Growth properties

Kinnipeetav

IMR-32 rakud | 300148

Regulatiivsed andmed

Citation	IMR-32 (Cytioni katalooginumber 300148)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0346

Biomolekulaarsed andmed

Isoenzymes	G6PD, B
Virus susceptibility	Vesikulaarstomatiit (Indiana), herpes simplex, vaktsiin, kooksackieviirus B3, polioviirus 3 (halvasti)
Virus resistance	Echoviirus 11
Reverse transcriptase	Negatiivne

Töötlemine

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	1×10^4 rakku/cm ²

IMR-32 rakud | 300148

Fluid renewal Iga 3 kuni 5 päeva tagant

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating Puudub

IMR-32 rakud | 300148

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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