Product sheet

GIMENi rakud | 300179

Üldine teave

Description	GIMENi rakuliin on saadud noore lapse luuüdi metastaasidest, kellel on diagnoositud IV staadiumi neuroblastoom. Need rakud on klassifitseeritud N-tüüpi, mis tavaliselt näitab neuroblastilist fenotüüpi, mida iseloomustab suur rakutihedus, neuronaalsed omadused ja võime ulatuslikuks neuriitide väljapressimiseks kultuuris. GIMENi rakuliini loomine annab väärtusliku mudeli neuroblastoomi agressiivsete vormide, eelkõige metastaatilise levikuga seotud molekulaar- ja rakumehhanismide uurimiseks. Funktsionaalselt on GIMENi rakkudel märkimisväärne koostoime erinevate tsütokiinide ja kasvufaktoritega. Eelkõige pärsib nende kasvu interferoon-gamma (IFN-gamma), tsütokiin, mis on tuntud oma antiproliferatiivse mõju poolest teatavatele vähirakkudele. Lisaks sellele avaldab fibroblastide kasvufaktor-2 (FGF-2) nendele rakkudele antimitogeenset mõju, mida saab IFN-gamma lisamisega muuta. See pöördumine viitab nende faktorite vahelisele keerulisele koostoimele rakkude proliferatsiooni moduleerimisel. Lisaks suurendab interleukiin-1 beeta (IL-1 beeta) FGF-2 antimitogeenset mõju, mis näitab selle võimalikku rolli neuroblastoomi mikrokeskkonna kasvudünaamika reguleerimisel. Need koostoimed rõhutavad GIMENi rakuliini kasulikkust tsütokiinide ja kasvufaktorite mõju uurimisel neuroblastoomi progresseerumisele ja ravivastusele.
Organism	Inimene
Tissue	Aju
Disease	Neuroblastoom
Metastatic site	Luuüdi
Synonyms	Gi-ME-N, Gi-MEN, GI-ME-N, Gimen, Gimen1, Gaslini Institute-ME-Neuroblastoma

Omadused

Age	3,5 aastat
Gender	Naised
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Epiteelilaadsed
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Product sheet

GIMENi rakud | 300179

Citation	GIMEN (Cytioni kataloginumber 300179)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1232

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	25 tundi
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt 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	2 kuni 3 x 10^4 rakku/cm^2
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

GIMENi rakud | 300179

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal 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 viaali 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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon 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. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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
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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.
HLA alleles	**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