

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 toimet, mis näitab selle võimalikku rolli neuroblastoomi mikrokeskkonna kasvu dünaamika 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

GIMENi rakud | 300179

Citation	GIMEN (Cytioni katalooginumber 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 NaHCO ₃ , 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 tsentrifugeerige 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 3×10^4 rakku/cm ²
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüsosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

GIMENi rakud | 300179**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 viali ettevaatlikult ja viige rakuksuspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ 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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

GIMENi rakud | 300179

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, '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