

GIMEN-solut | 300179

Yleisiä tietoja

Description

GIMEN-solulinja on peräisin IV-vaiheen neuroblastoomaan sairastuneen nuoren lapsen luuydinmetastaasista. Nämä solut luokitellaan N-tyyppin soluiksi, mikä tyypillisesti viittaa neuroblastiseen fenotyyppiin, jolle on ominaista suuri solutiheys, neuronaaliset ominaisuudet ja kyky laajamittaiseen neuriitin kasvuun viljelyssä. GIMEN-solulinjan perustaminen tarjoaa arvokkaan mallin neuroblastooman aggressiivisten muotojen taustalla olevien molekyyli- ja solumekanismien tutkimiseen, erityisesti niiden, joihin liittyy metastaattinen leviäminen.

Toiminnallisesti GIMEN-soluilla on huomattavia vuorovaikutuksia eri sytokiinien ja kasvutekijöiden kanssa. Erityisesti niiden kasvua estää interferoni-gamma (IFN-gamma), sytokiini, joka tunnetaan sen antiproliferatiivisista vaikutuksista tiettyihin syöpäsoluihin. Lisäksi fibroblastikasvutekijä-2:lla (FGF-2) on näihin soluihin antimitogeeninen vaikutus, joka voidaan kumota lisäämällä IFN-gammaa. Tämä kumoaminen viittaa näiden tekijöiden väliseen monimutkaiseen vuorovaikutukseen solujen proliferaation moduloinnissa. Lisäksi interleukiini-1-beeta (IL-1-beeta) tehostaa FGF-2:n antimitogeenisiä vaikutuksia, mikä viittaa sen mahdolliseen rooliin kasvaimen kasvun dynamiikan säätelyssä neuroblastooman mikroympäristössä. Nämä vuorovaikutukset korostavat GIMEN-solulinjan hyödyllisyyttä tutkittaessa sytokiinien ja kasvutekijöiden vaikutusta neuroblastooman etenemiseen ja hoitovasteeseen.

Organism Ihminen

Tissue Aivot

Disease Neuroblastooma

Metastatic site Luuydin

Synonyms Gi-ME-N, Gi-MEN, GI-ME-N, Gimen, Gimen1, Gaslini-instituutti-ME-Neuroblastooma

Ominaisuudet

Age 3,5 vuotta

Gender Nainen

Ethnicity Kaukasialainen

Morphology Epiteelin kaltainen

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

GIMEN-solut | 300179

Citation	GIMEN (Cytionin luettelonumero 300179)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1232

Biomolekyytitiedot

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	25 tuntia
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	2-3 x 10 ⁴ solua/cm ²
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

GIMEN-solut | 300179

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

GIMEN-solut | 300179

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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