

GIMEN sejtek | 300179

Általános információk

Description

A GIMEN sejtvonal egy IV. stádiumú neuroblasztómával diagnosztizált kisgyermek csontvelő-metasztázisából származik. Ezek a sejtek N-típusúnak minősülnek, ami jellemzően neuroblastikus fenotípust jelez, amelyet nagy sejtsűrűség, neuronális tulajdonságok és a kultúrában történő kiterjedt neurit kinövés képessége jellemez. A GIMEN sejtvonal létrehozása értékes modellt biztosít a neuroblasztóma agresszív formáinak háttérében álló molekuláris és sejtszintű mechanizmusok tanulmányozásához, különösen azokhoz, amelyek metasztatikus terjedéssel járnak.

Funkcionálisan a GIMEN sejtek figyelemre méltó kölcsönhatásokat mutatnak különböző citokinekkal és növekedési faktorokkal. Különösen az interferon-gamma (IFN-gamma) gátolja növekedésüket, amely citokin bizonyos rákos sejtekre gyakorolt antiproliferatív hatásáról ismert. Továbbá a fibroblaszt növekedési faktor-2 (FGF-2) antimitogén hatást fejt ki ezekre a sejtekre, ami az IFN-gamma hozzáadásával visszafordítható. Ez a visszafordulás arra utal, hogy a sejtproliferáció modulálásában e faktorok között összetett kölcsönhatás áll fenn. Ezenkívül az interleukin-1 béta (IL-1 béta) fokozza az FGF-2 antimitogén hatását, ami a neuroblasztóma mikro környezetében a tumor növekedési dinamikájának szabályozásában játszott lehetséges szerepére utal. Ezek a kölcsönhatások kiemelik a GIMEN sejtvonal hasznosságát a citokinek és a növekedési faktorok neuroblastoma progressziójára és a terápiára adott válaszra gyakorolt hatásának feltárásában.

Organism

Emberi

Tissue

Agy

Disease

Neuroblasztóma

Metastatic site

Csontvelő

Synonyms

Gi-ME-N, Gi-MEN, GI-ME-N, Gimen, Gimen1, Gaslini Intézet-ME-Neuroblastoma

Jellemzők

Age

3,5 év

Gender

Női

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Ephelszerű

Growth properties

Adherent

GIMEN sejtek | 300179

Szabályozási adatok

Citation	GIMEN (Cytion katalógusszám: 300179)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1232

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	25 óra
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	2-3 x 10 ⁴ sejt/cm ²
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

GIMEN sejtek | 300179

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

GIMEN sejtek | 300179

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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