Product sheet

GIMEN ląstelės | 300179

Bendra informacija

Description	GIMEN ląstelių linija gauta iš mažo vaiko, kuriam diagnozuota IV stadijos neuroblastoma, kaulų čiulpų metastazių. Šios ląstelės priskiriamos N tipo ląstelėms, kurios paprastai rodo neuroblastinį fenotipą, pasižymintį dideliu ląstelių tankiu, neuronų savybėmis ir gebėjimu kultūroje plačiai auginti neuritus. GIMEN ląstelių linijos sukūrimas yra vertingas modelis, leidžiantis tirti molekulinius ir ląstelinius mechanizmus, kuriais grindžiamos agresyvios neuroblastomos formos, ypač susijusios su metastaziniu išplitimu. Funkciniu požiūriu GIMEN ląstelės pasižymi pastebima sąveika su įvairiais citokinais ir augimo veiksniais. Ypač jų augimą slopina interferonas-gama (IFN-gama) - citokinas, pasižymintis antiproliferaciniu poveikiu tam tikroms vėžio ląstelėms. Be to, fibroblastų augimo faktorius-2 (FGF-2) šioms ląstelėms turi antimitogeninį poveikį, kurį galima panaikinti pridėjus IFN-gamma. Šis atvirkštinis poveikis rodo sudėtingą šių veiksnių sąveiką moduliuojant ląstelių proliferaciją. Be to, interleukinas-1 beta (IL-1 beta) sustiprina antimitogeninį FGF-2 poveikį, o tai rodo jo galimą vaidmenį reguliuojant naviko augimo dinamiką neuroblastomos mikroaplinkoje. Ši sąveika rodo GIMEN ląstelių linijos naudą tiriant citokinų ir augimo veiksnių poveikį neuroblastomos progresavimui ir atsakui į gydymą.
Organism	Žmogus
Tissue	Smegenys
Disease	Neuroblastoma
Metastatic site	Kaulų čiulpai
Synonyms	Gi-ME-N, Gi-MEN, GI-ME-N, Gimen, Gimen1, Gaslini institutas-ME-Neuroblastoma

Charakteristikos

Age	3,5 metų
Gender	Moteris
Ethnicity	Kaukaziečių
Morphology	Į epitelį panašus
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

GIMEN ląstelės | 300179

Citation	GIMEN (Cytion katalogo numeris 300179)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1232

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO3, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	25 valandos
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	2–3 x 10^4 ląstelės/cm^2
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

GIMEN ląstelės | 300179

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.
HLA aleliai	**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