Product sheet

IMR-32 šūnas | 300148

Vispārīga informācija

Description	IMR-32 ir cilvēka neiroblastomas šūnu līnija, kas iegūta no bērna, kuram diagnosticēta neiroblastoma - ļaundabīgs audzējs, kura izcelsme ir nervu kores šūnas, virsnieru smadzeņu smadzeņu smadzenēs. Šīm šūnām piemīt nenobriedušu neironu šūnu īpašības, tāpēc tās ir vērtīgs modelis neironu diferenciācijas, neiroblastomas patoģenēzes un neiroloģiskās attīstības procesu pamatā esošo molekulāro mehānismu izpētei. IMR-32 šūnām ir augsta proliferācijas spēja un tās saglabā spēju sintezēt kateholamīnus, jo īpaši dopamīnu un noradrenalīnu, kas ir būtiski neiromediatori nervu sistēmā. IMR-32 šūnām ir diploīdais kariotips ar specifiskām hromosomālām aberācijām, kas parasti saistītas ar neiroblastomu, piemēram, MYCN onkogēna amplifikāciju. Šī īpašība padara tās īpaši noderīgas, lai pētītu neiroblastomas ģenētiskos un molekulāros faktorus, tostarp MYCN lomu audzēja rašanās un progresēšanas procesā. Turklāt IMR-32 šūnas tiek izmantotas zāļu skrīninga testos, lai novērtētu potenciālo terapeitisko līdzekļu efektivitāti un citotoksicitāti, kas vērsti pret neiroblastomu. Tomēr ir būtiski atzīmēt, ka šīs šūnas ir paredzētas tikai pētījumiem in vitro un nav piemērotas nekādiem terapeitiskiem vai in vivo lietojumiem.
Organism	Cilvēks
Tissue	Smadzenes
Disease	Neuroblastoma
Metastatic site	Vēders
Synonyms	IMR 32, IMR32, Medicīnas pētījumu institūts-32, GM03320, GM3320C, GM03320D, AG03320, AG3320, AG3320

Raksturojums

Age	13 mēneši
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Fibroblastiem līdzīgs
Cell type	Neuroblasts
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

IMR-32 šūnas | 300148

Citation	IMR-32 (Cytion kataloga numurs 300148)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0346

Biomolekulārie dati

Isoenzymes	G6PD, B
Virus susceptibility	Vezikulārais stomatīts (Indiana), herpes simplex, vakcīnija, koksackie vīruss B3, poliovīruss 3 (vāji)
Virus resistance	Echovīruss 11
Reverse transcriptase	Negatīvs

Darbs ar

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L $NaHCO_3$, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Seeding density	1×10^4 šūnas/cm^2
Fluid renewal	Ik pēc 3 līdz 5 dienām

IMR-32 šūnas | 300148

Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izkliedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5 x 10^4 šūnas/cm^2 un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens

Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.
HLA alēles	**A***: '02:01:01, '24:02:01 **B***: '07:02:01, '15:01:01 **C***: '03:03:01, '07:02:01 **DRB1***: '07:01:01, '13:01:01 **DQA1***: '01:03:01, '02:01:01 **DQB1***: '03:03:02, '06:03:01 **DPB1***: '02:01:02, '04:01:01 **E**: '01:01, '01:03