

IMR-32 šūnas | 300148

Vispārīga informācija

Description

IMR-32 ir cilvēka neuroblastomas šūnu līnija, kas iegūta no bērna, kuram diagnosticēta neuroblastoma - 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, neuroblastomas 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 neiromediatoru nervu sistēmā.

IMR-32 šūnām ir diploīdais kariotips ar specifiskām hromosomālām aberācijām, kas parasti saistītas ar neuroblastomu, piemēram, MYCN onkogēna amplifikāciju. Šī īpašība padara tās īpaši noderīgas, lai pētītu neuroblastomas 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 neuroblastomu. 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 NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem 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/cm²**Fluid renewal** Ik pēc 3 līdz 5 dienām

IMR-32 šūnas | 300148

Post-Thaw Recovery

Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² 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. Pārlicinieties, 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

IMR-32 šūnas | 300148

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums 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 šķidrums 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 slāpekļī 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 / Ģenētiskais profils / HLA**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, 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