Product sheet

GIMEN šūnas | 300179

Vispārīga informācija

Description	GIMEN šūnu līnija ir iegūta no kaulu smadzeņu metastāzēm mazam bērnam, kuram diagnosticēta IV stadijas neiroblastoma. Šīs šūnas tiek klasificētas kā N tipa šūnas, kas parasti norāda uz neiroblastisku fenotipu, kam raksturīgs liels šūnu blīvums, neironu īpašības un spēja kultūrā plaši izaugt neirītiem. GIMEN šūnu līnijas izveide nodrošina vērtīgu modeli, lai pētītu molekulāros un šūnu mehānismus, kas ir pamatā agresīvām neiroblastomas formām, jo īpaši tām, kas saistītas ar metastātisku izplatīšanos. Funkcionāli GIMEN šūnām ir ievērojama mijiedarbība ar dažādiem citokīniem un augšanas faktoriem. Jo īpaši to augšanu kavē interferons gamma (IFN-gamma), citokīns, kas pazīstams ar savu antiproliferatīvo iedarbību uz dažām vēža šūnām. Turklāt fibroblastu augšanas faktoram-2 (FGF-2) ir antimitogēniska iedarbība uz šīm šūnām, ko var novērst, pievienojot IFN-gamma. Šī maiņa liecina par sarežģītu mijiedarbību starp šiem faktoriem, modulējot šūnu proliferāciju. Turklāt interleikīns-1 beta (IL-1 beta) pastiprina FGF-2 antimitogēno iedarbību, norādot uz tā potenciālo lomu audzēja augšanas dinamikas regulēšanā neiroblastomas mikrovietā. Šīs mijiedarbības izceļ GIMEN šūnu līnijas lietderību, pētot citokīnu un augšanas faktoru ietekmi uz neiroblastomas progresēšanu un atbildes reakciju uz terapiju.
Organism	Cilvēks
Tissue	Smadzenes
Disease	Neuroblastoma
Metastatic site	Kaulu smadzenes
Synonyms	Gi-ME-N, Gi-MEN, GI-ME-N, Gimen, Gimen1, Gaslini Institute-ME-Neuroblastoma

Raksturojums

Age	3,5 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Epitēlijveidīgs
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

GIMEN šūnas | 300179

Citation	GIMEN (Cytion kataloga numurs 300179)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1232

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	25 stundas
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	2 līdz 3 x 10^4 šūnas/cm^2
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
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.

GIMEN šūnas | 300179

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, '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