

Komórki IMR-32 | 300148**Informacje ogólne****Description**

IMR-32 to ludzka linia komórek neuroblastoma pochodząca z rdzenia nadnerczy dziecka, u którego zdiagnozowano neuroblastoma, złośliwy nowotwór wywodzący się z komórek grzebienia nerwowego. Komórki te wykazują cechy niedojrzałych komórek neuronalnych, co czyni je cennym modelem do badania różnicowania neuronów, patogenezy nerwiaka niedojrzałego i mechanizmów molekularnych leżących u podstaw procesów neurorozwojowych. Komórki IMR-32 mają wysoką zdolność do proliferacji i zachowują zdolność do syntezy katecholamin, w szczególności dopaminy i noradrenaliny, które są niezbędnymi neuroprzekaznikami w układzie nerwowym.

Komórki IMR-32 wykazują diploidalny kariotyp z określonymi aberracjami chromosomalnymi powszechnie związanymi z nerwiakiem niedojrzałym, takimi jak amplifikacja onkogenu MYCN. Cecha ta sprawia, że są one szczególnie przydatne w badaniach nad genetycznymi i molekularnymi czynnikami neuroblastomy, w tym rolę MYCN w nowotworzeniu i progresji. Ponadto komórki IMR-32 są wykorzystywane w testach przesiewowych leków w celu oceny skuteczności i cytotoksyczności potencjalnych środków terapeutycznych ukierunkowanych na nerwiaka niedojrzałego. Należy jednak pamiętać, że komórki te są przeznaczone wyłącznie do celów badawczych in vitro i nie nadają się do żadnych zastosowań terapeutycznych ani in vivo.

Organism Człowiek**Tissue** Mózg**Disease** Neuroblastoma**Metastatic site** Brzuch**Synonyms** IMR 32, IMR32, Instytut Badań Medycznych-32, GM03320, GM3320C, GM03320D, AG03320, AG3320**Charakterystyka****Age** 13 miesięcy**Gender** Męczyzna**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Podobny do fibroblastów**Cell type** Neuroblast**Growth properties** Adherent

Komórki IMR-32 | 300148**Dane regulacyjne**

Citation	IMR-32 (numer katalogowy Cytion 300148)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0346

Dane biomolekularne

Isoenzymes	G6PD, B
Virus susceptibility	Pęcherzykowe zapalenie jamy ustnej (Indiana), opryszczka zwykła, krowianka, wirus Coxsackie B3, wirus polio 3 (słabo)
Virus resistance	Echowirus 11
Reverse transcriptase	Negatywny

Obsługa

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecane są proporcje od 1:3 do 1:6

Komórki IMR-32 | 300148

Seeding density 1×10^4 komórek/cm²

Fluid renewal Co 3 do 5 dni

Post-Thaw Recovery Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Komórki IMR-32 | 300148

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, nawilżona atmosfera.

Flask Coating Brak

Freezing Procedure Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Komórki IMR-32 | 300148

Profil STR

Amelogenin: x,y

CSF1PO: 11,12

D13S317: 9

D16S539: 8

D5S818: 11,12

D7S820: 9,10

TH01: 7,9,3

TPOX: 11

vWA: 15

D3S1358: 16

D21S11: 30,31

D18S51: 12,15

Penta E: 7,15

Penta D: 11,12

D8S1179: 13

FGA: 21,24

D1S1656: 17,17.3

D6S1043: 14,18

D2S1338: 23,24

D12S391: 19.3,23

D19S433: 14,15

Allele HLA

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