Product sheet

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 neuroprzekaźnikami 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 rolą 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	Mężczyzna
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Podobny do fibroblastów
Cell type	Neuroblast
Growth properties	Adherent

Product sheet

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 NaHCO3, 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. Odrzucić 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 x 10^4 kom^{órek}/cm^2
Fluid renewal	Co 3 do 5 dni
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5 x 10^4 komórek/cm^2 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 przepływowym, 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 fiolki 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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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 i analiza molekularna

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