Product sheet

Komórki GIMEN | 300179

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa GIMEN pochodzi z przerzutów do szpiku kostnego małego dziecka, u którego zdiagnozowano neuroblastomę w stadium IV. Komórki te są klasyfikowane jako typ N, co zazwyczaj wskazuje na fenotyp neuroblastyczny charakteryzujący się wysoką gęstością komórek, właściwościami neuronalnymi i zdolnością do rozległego wzrostu neurytów w hodowli. Stworzenie linii komórkowej GIMEN zapewnia cenny model do badania mechanizmów molekularnych i komórkowych leżących u podstaw agresywnych form nerwiaka niedojrzałego, szczególnie tych związanych z przerzutami. Pod względem funkcjonalnym komórki GIMEN wykazują znaczące interakcje z różnymi cytokinami i czynnikami wzrostu. W szczególności ich wzrost jest hamowany przez interferon-gamma (IFN-gamma), cytokinę znaną z działania antyproliferacyjnego na niektóre komórki nowotworowe. Co więcej, czynnik wzrostu fibroblastów-2 (FGF-2) wykazuje działanie antymitogenne na te komórki, które może być odwrócone przez dodanie IFN-gamma. To odwrócenie sugeruje złożoną interakcję między tymi czynnikami w modulowaniu proliferacji komórek. Dodatkowo, interleukina-1 beta (IL-1 beta) wzmacnia antymitogenne działanie FGF-2, wskazując na jego potencjalną rolę w regulacji dynamiki wzrostu guza w mikrośrodowisku neuroblastomy. Interakcje te podkreślają użyteczność linii komórkowej GIMEN w badaniu wpływu cytokin i czynników wzrostu na progresję neuroblastomy i odpowiedź na terapię.
Organism	Człowiek
Tissue	Mózg
Disease	Neuroblastoma
Metastatic site	Szpik kostny
Synonyms	Gi-ME-N, Gi-MEN, GI-ME-N, Gimen, Gimen1, Gaslini Institute-ME-Neuroblastoma

Charakterystyka

Age	3,5 roku
Gender	Kobieta
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Podobny do nabłonka
Growth properties	Adherent

Product sheet

Komórki GIMEN | 300179

Dane regulacyjne

Citation	GIMEN (numer katalogowy Cytion 300179)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1232

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	25 godzin
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.
Seeding density	2 do 3 x $10^{4\ \text{komórek}}/\text{cm}^2$
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
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.

Komórki GIMEN | 300179

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.

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.

Komórki GIMEN | 300179

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.
Profil STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 11,12 **D13S317**: 12 **D16S539**: 9,12 **D5S818**: 12 **D7S820**: 10,11 **TH01**: 6,7 **TPOX**: 11 **vWA**: 16,19 **D3S1358**: 14 **FGA**: 31 **D1S1656**: 12,17 **D6S1043**: 15,2 **D2S1338**: 9,13 **D12S391**: 10,14 **D19S433**: 19,22
Allele HLA	**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