

Buňky ME-180 | 300196

Obecné informace

Description

Buněčná linie ME-180 je epiteliální buněčná linie vytvořená z vysoce invazivního dlaždicobuněčného karcinomu, který byl původně izolován z omentální metastázy karcinomu děložního hrdla u 66leté bělošské pacientky. Karcinom se vyznačoval nepravidelnými shluky buněk bez výrazné keratinizace a minimální nekrózou. Tato buněčná linie je vzhledem ke svému původu a agresivnímu charakteru zvláště významná pro výzkum rakoviny, zejména pro studie týkající se karcinomu děložního čípku a dalších forem dlaždicobuněčného karcinomu. Buňky ME-180 jsou tumorigenní a bylo prokázáno, že po implantaci do nahých myší vytvářejí dobře diferencované epidermoidní karcinomy.

Buňky ME-180 mají několik jedinečných vlastností, včetně heteroploidního karyotypu se subtriploidním režimem, což ukazuje na nestabilní chromozomální uspořádání. Buňky vykazují typickou epiteliální morfologii s četnými desmosomy a tonofibrilami a nevykazují kontaktní inhibici, což často vede k vrstevnatému růstu v kultuře. Růst buněčné linie je inhibován tumor nekrotizujícím faktorem alfa (TNF alfa), což ji činí užitečnou pro studie zkoumající účinky zánětlivých cytokinů na nádorové buňky. Buňky ME-180 navíc obsahují DNA lidského papilomaviru (HPV) s vyšší homologií k HPV-68 ve srovnání s HPV-18, což by mohlo být důležité pro studie karcinogeneze související s HPV.

Buňky ME-180 jsou rovněž cenné pro výzkum infekčních onemocnění díky své citlivosti na různé viry. Tato buněčná linie byla použita ke studiu interakce s několika viry, včetně chřipkových a myxovirů. Buňky ME-180 prokázaly schopnost vytvářet perzistentní infekce s některými myxoviry, což z nich činí užitečný model pro studium virové latence a dlouhodobých účinků virové infekce na nádorové buňky. Kombinace rakovinného původu, náchylnosti k virům a specifických růstových vlastností činí z ME-180 univerzální nástroj v onkologickém i virologickém výzkumu.

Organism Člověk**Tissue** Děloha, děložní čípek**Disease** Epidermoidní karcinom**Metastatic site** Omentum**Synonyms** Me-180, ME 180, ME180

Charakteristika

Age 66 let**Gender** Ženy**Ethnicity** Kavkazský**Morphology** Epitelu podobné

Buňky ME-180 | 300196

Cell type Epitelové**Growth properties** Adherentní

Regulační údaje

Citation ME-180 (katalogové číslo Cytion 300196)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1401

Biomolekulární data

Viruses HPV68 pozitivní

Zpracování

Culture Medium McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilní glutamin, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (číslo článku Cytion 820200a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Seeding density** 1×10^4 buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně

Buňky ME-180 | 300196

Post-Thaw Recovery

Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Buňky ME-180 | 300196**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza**Sterility**

Kontaminace mykoplasmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplasmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11,11
D13S317: 11,13
D16S539: 12,13
D5S818: 12,12
D7S820: 9,10
TH01: 8,9.3
TPOX: 8,10
vWA: 15,17
D3S1358: 16,16
D21S11: 30,31
D18S51: 12,12
Penta E: 12,14
Penta D: 9,14
D8S1179: 14,14
FGA: 23,23
PEZ6: HB-CLS-1