

MEC-1-celler | 305434

Generel information

Description

MEC-1-cellelinjen stammer fra en patient med kronisk lymfocytisk leukæmi (CLL) i det prolymfocytoide transformationsstadium. Den fungerer som en vigtig model til undersøgelse af biologien bag B-celle-maligniteter, især de molekylære mekanismer, der ligger til grund for CLL, samt sygdommens reaktioner på behandlinger. MEC-1-celler er kendetegnet ved ekspresion af CD19- og CD5-markører, hvilket stemmer overens med deres oprindelse i CLL, og de anvendes i vid udstrækning til at undersøge mekanismerne bag kemoresistens og metaboliske tilpasninger ved leukæmi.

Forskning med anvendelse af MEC-1-celler har givet indsigt i samspillet mellem tumorens mikromiljø og leukæmicellernes overlevelse. Denne cellelinje har f.eks. været afgørende for at identificere mekanismer for resistens over for målrettede behandlinger, såsom Bcl-2-antagonisten venetoclax. I resistente MEC-1-derivater (MEC-1 VER) er der observeret overekspresion af p38 MAPK samt ændringer i ekspresionen af pro-apoptotiske og anti-apoptotiske proteiner. Dette understreger potentialet i at målrette indsatsen mod signalveje som p38 MAPK og immunoproteasomet for at overvinde lægemiddelresistens.

Under hypoxiske forhold udviser MEC-1-celler en metabolisk omprogrammering, der understøtter deres overlevelse og proliferation. Denne tilpasning indebærer øget ekspresion af glukosetransportører som GLUT1 og GLUT3 samt ændringer i glykolysen og laktatproduktionen, som reguleres af hypoxi-inducerbare faktorer (HIF'er). Derudover har undersøgelser, der involverer CRISPR/Cas9-medieret sletning af specifikke mikroRNA'er, såsom miR-155, afsløret deres rolle i reguleringen af MEC-1-cellernes stofskifte og proliferation under hypoxisk stress, hvilket åbner yderligere muligheder for terapeutisk intervention.

Organism

Menneske

Tissue

Perifert blod

Disease

Kronisk lymfatisk leukæmi

Synonyms

MEC1

Karakteristika

Age

61 år

Gender

Mand

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Lymfoblast-lignende

Cell type

B-celle

MEC-1-celler | 305434

Growth properties

Suspension, enkeltceller og let sammenklumpede, små aggregater

Regulatoriske data**Citation** MEC-1 (Cytion-katalognummer 305434)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1870**Biomolekylære data****Viruses** Transformant: Epstein-Barr-virus (EBV)**Mutational profile** Mutation: TP53, p.Gln317Profs*20 (c.949dupC) (c.949_950insC), homozygot; Genfusion: R3HCC1L-HTRA1**Håndtering****Culture Medium** IMDM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM natriumpyruvat, w: 3,024 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820800a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Seeding density** $3-5 \times 10^5$ /ml**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

MEC-1-celler | 305434**Thawing and
Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

**Shipping
Conditions**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

**Storage
Conditions**

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

MEC-1-celler | 305434

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.