

MEC-1-rakud | 305434

Üldine teave

Description

MEC-1 rakuliin on saadud kroonilise lümfotsütaarse leukeemia (CLL) patsiendilt, kelle haigus oli pro-lümfotsütoide transformatsiooni staadiumis. See on oluline mudel B-rakkude pahaloormuliste kasvaja bioloogia uurimiseks, eriti CLL-i aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide ja ravivastuste uurimiseks. MEC-1-rakke iseloomustab CD19- ja CD5-markerite ekspressioon, mis on kooskõlas nende päritoluga CLL-ist, ning neid kasutatakse laialdaselt leukeemia kemoresistentsuse ja metaboolsete kohanemiste mehhanismide uurimiseks.

MEC-1-rakke kasutatav teadustöö on andnud uusi teadmisi kasvajakroonilise ja leukeemiarakkude ellujäämise vahelise vastastikmõju kohta. Näiteks on see rakuliin olnud otsustava tähtsusega sihtterapiate, nagu Bcl-2-antagonisti venetoklaksi, suhtes resistentsuse mehhanismide kindlakstegemisel. Resistentses MEC-1 derivaatides (MEC-1 VER) on täheldatud p38 MAPK üliekspressiooni ning muutusi apoptoosi soodustavate ja apoptoosi pärssivate valkude ekspressioonis. See rõhutab p38 MAPK ja immunoproteasoomi taoliste signaalradade sihtmärgistamise potentsiaali ravimresistentsuse ületamisel.

Hüpoksilistes tingimustes toimub MEC-1 rakkudes ainevahetuse ümberprogrammeerimine, mis toetab nende ellujäämist ja paljunemist. See kohanemine hõlmab glükoositransportijate, nagu GLUT1 ja GLUT3, ekspressiooni suurenemist, samuti glükolüüsi ja laktaadi tootmise muutusi, mida reguleerivad hüpoksiast indutseeritavad faktorid (HIF-id). Lisaks on uuringud, milles on CRISPR/Cas9 abil eemaldatud spetsiifilisi mikroRNA-sid, nagu miR-155, näidanud nende rolli MEC-1-rakkude ainevahetuse ja paljunemise reguleerimisel hüpoksilise stressi tingimustes, pakkudes täiendavaid võimalusi terapeutiliseks sekkumiseks.

Organism

Inimene

Tissue

Perifeerne veri

Disease

Krooniline lümfotsütaarne leukeemia

Synonyms

MEC1

Omadused

Age

61 aastat

Gender

Mees

Ethnicity

Kaukaasia

Morphology

Lümfoblastilaadsed

Cell type

B-raku

MEC-1-rakud | 305434

Growth properties

Suspensioon, üksikud rakud ja kergelt kokkukleepunud väikesed agregaadid

Regulatiivsed andmed

Citation MEC-1 (Cytioni katalooginumber 305434)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1870

Biomolekulaarsed andmed

Viruses Transformant: Epstein-Barri viirus (EBV)**Mutational profile** Mutatsioon: TP53, p.Gln317Profs*20 (c.949dupC) (c.949_950insC), homosügootne; geenifusioon: R3HCC1L-HTRA1

Töötlemine

Culture Medium IMDM, w: 4,5 g/L glükoos, w: 4 mM L-glutamiin, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 3,024 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820800a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Seeding density** $3-5 \times 10^5/\text{ml}$ **Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

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

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

MEC-1-rakud | 305434

Sterility

Mükoplasmaakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.