Product sheet

ME-180 rakud | 300196

Üldine teave

Description	ME-180 rakuliin on epiteelirakuliin, mis on loodud väga invasiivsest laasirakk-kartsinoomist, mis on algselt isoleeritud 66-aastase valge naissoost patsiendi emakakaelavähi omentaalmetastaasist. Kartsinoomile olid iseloomulikud ebakorrapärased rakukobarad, millel puudus märkimisväärne keratiniseerumine ja minimaalne nekroos. See rakuliin on eriti oluline vähiuuringute jaoks, eriti emakakaelavähki ja muid plaatinakartsinoomi vorme hõlmavates uuringutes, selle päritolu ja agressiivse iseloomu tõttu. ME-180 rakud on tumorigeensed ja on näidatud, et nad moodustavad hästi diferentseerunud epidermoidseid kartsinoome, kui neid implanteeritakse alasti hiirtele. ME-180 rakkudel on mitmeid unikaalseid omadusi, sealhulgas heteroploidne karüotüüp subtriploidse režiimiga, mis viitab ebastabiilsele kromosoomide paigutusele. Rakkudel on tüüpiline epiteeli morfoloogia koos arvukate desmosoomide ja tonofibrillidega ning neil ei esine kontaktinhibeerimist, mis viib kultuuris sageli kihilise kasvuni. Rakuliini kasvu inhibeerib tuumornekroosifaktor alfa (TNF alfa), mistõttu on see kasulik uuringutes, kus uuritakse põletikuliste tsütokiinide mõju kasvajarakkudele. Lisaks sellele sisaldavad ME-180 rakud inimese papilloomiviiruse (HPV) DNA-d, millel on suurem homoloogia HPV-68 suhtes võrreldes HPV-18-ga, mis võib olla oluline HPV-ga seotud kantserogeneesi uuringutes. ME-180 rakud on väärtuslikud ka nakkushaiguste uurimisel nende tundlikkuse tõttu erinevate viiruste suhtes. Seda rakuliini on kasutatud mitmete viiruste, sealhulgas gripi- ja müksoviiruste koostoime uurimiseks. ME-180 rakud on näidanud võimet moodustada püsivaid infektsioone mõnede müksoviirustega, mistõttu on nad kasulikud mudeliks viirusliku latentsuse ja viirusinfektsiooni pikaajalise mõju uurimiseks vähirakkudele. Vähi päritolu, viiruse vastuvõtlikkuse ja spetsiifiliste kasvutunnuste kombinatsioon teeb ME-180 mitmekülgseks vahendiks nii onkoloogilistes kui ka viroloogilistes uuringutes.
Organism	Inimene
Tissue	Emakas, emakakael
Disease	Epidermoidne kartsinoom
Metastatic site	Omentum
Synonyms	Me-180, ME 180, ME180

Omadused

Age	66 aastat
Gender	Naised
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Epiteelilaadsed

Product sheet

ME-180 rakud | 300196

Cell type	Epiteel
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	ME-180 (Cytioni kataloginumber 300196)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1401

Biomolekulaarsed andmed

Viruses	HPV68 positiivne

Töötlemine

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/L glükoos, w: stabiilne glutamiin, w: 2,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820200a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	1 x 10^4 rakku/cm^2
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas

ME-180 rakud | 300196

Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5 x $10^{4\ rakku}/cm^2$ ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.
Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal 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 viaali 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 viaali 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 söötmekeskkond 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%$_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

ME-180 rakud | 300196

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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid 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

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.