Product sheet

ME-180-solut | 300196

Yleisiä tietoja

Description	ME-180-solulinja on epiteelisolulinja, joka on peräisin erittäin invasiivisesta levyepiteelisolusyövästä, joka on alun perin eristetty 66-vuotiaan valkoihoisen naispotilaan kohdunkaulan karsinooman etäpesäkkeestä. Karsinoomalle oli ominaista epäsäännölliset solurykelmät, joissa ei ollut merkittävää keratinisaatiota ja joissa nekroosi oli minimaalinen. Tämä solulinja on alkuperänsä ja aggressiivisen luonteensa vuoksi erityisen merkittävä syöpätutkimuksen kannalta, erityisesti tutkimuksissa, jotka koskevat kohdunkaulan syöpää ja muita levyepiteelisolusyövän muotoja. ME-180-solut ovat tumorigeenisiä, ja niiden on osoitettu muodostavan hyvin erilaistuneita epidermoideaalisia karsinoomia, kun ne on istutettu alastomiin hiiriin. ME-180-soluilla on useita ainutlaatuisia ominaisuuksia, kuten heteroploidinen karyotyyppi, jossa on subtriploidinen tila, mikä viittaa epävakaaseen kromosomijärjestykseen. Soluilla on tyypillinen epiteelimorfologia, jossa on lukuisia desmosomeja ja tonofibrillejä, eikä niillä ole kontakti-inhibitiota, mikä johtaa usein kerrokselliseen kasvuun viljelyssä. Solulinjan kasvua estää tuumorinekroositekijä alfa (TNF alfa), joten se on hyödyllinen tutkimuksissa, joissa tutkitaan tulehdussytokiinien vaikutuksia kasvainsoluihin. Lisäksi ME-180-solut sisältävät ihmisen papilloomaviruksen (HPV) DNA:ta, jolla on suurempi homologia HPV-68:n kuin HPV-18:n kanssa, mikä voi olla merkityksellistä HPV:hen liittyvää karsinogeneesiä koskevissa tutkimuksissa. ME-180-solut ovat arvokkaita myös tartuntatautien tutkimuksessa, koska ne ovat herkkiä erilaisille viruksille. Solulinjaa on käytetty useiden virusten, kuten influenssa- ja myksovirusten, vuorovaikutuksen tutkimiseen. ME-180-solut ovat osoittaneet kykenevänsä muodostamaan pysyviä infektioita joidenkin myksovirusten kanssa, mikä tekee niistä hyödyllisen mallin viruksen latenssin ja virusinfektion pitkäaikaisvaikutusten tutkimiseen syöpäsoluissa. Syöpäperäisyyden, virusherkkyyden ja erityisten kasvuominaisuuksien yhdistelmä tekee ME-180:stä monipuolisen välineen sekä onkologian että virologian tutkimuksessa.
Organism	Ihminen
Tissue	Kohdunsuu, kohdunkaula
Disease	Epidermoidinen karsinooma
Metastatic site	Omentum
Synonyms	Me-180, ME 180, ME180

Ominaisuudet

Age	66 vuotta
Gender	Nainen
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Epiteelin kaltainen

Product sheet

ME-180-solut | 300196

Cell type	Epiteeli
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	ME-180 (Cytionin luettelonumero 300196)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1401

Biomolekyylitiedot

Viruses	HPV68 positiivinen

Käsittely

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukoosia, w: vakaa glutamiini, w: 2,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,2 g/l NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820200a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	1×10^4 solua/cm^2
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa

ME-180-solut | 300196

Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10^4 solua/cm^2 ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.
Thawing and Culturing Cells	1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana. 2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä. 3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle. 4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista. 5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen. 6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia. 7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi. 8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään

Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.