Product sheet

ME-180 sejtek | 300196

Általános információk

Description	Az ME-180 sejtvonal egy olyan epiteliális sejtvonal, amelyet egy 66 éves fehér bőrű nőbeteg méhnyakrákjának omentális metasztázisából izolált, erősen invazív laphámsejtes karcinómából hoztak létre. A karcinómát szabálytalan sejtcsomók jellemezték, jelentős keratinizáció és minimális nekrózis nélkül. Ez a sejtvonal különösen jelentős a rákkutatás szempontjából, különösen a méhnyakrák és a laphámrák más formáival kapcsolatos vizsgálatokban, származása és agresszív jellege miatt. Az ME-180 sejtek tumorigénak bizonyultak, és meztelen egerekbe ültetve jól differenciált epidermoid karcinómákat képeznek. Az ME-180 sejtek számos egyedi tulajdonsággal rendelkeznek, többek között heteroploid kariotípussal, szubtriploid móddal, ami instabil kromoszómaelrendezésre utal. A sejtek tipikus epiteliális morfológiát mutatnak, számos deszmoszómával és tonofibrillummal, és nem mutatnak kontaktgátlást, ami gyakran réteges növekedést eredményez a kultúrában. A sejtvonal növekedését gátolja a tumor nekrózis faktor alfa (TNF alfa), így hasznos a gyulladásos citokinek tumorsejtekre gyakorolt hatását vizsgáló vizsgálatokban. Emellett az ME-180 sejtek humán papillomavírus (HPV) DNS-t tartalmaznak, amely a HPV-18-hoz képest nagyobb homológiát mutat a HPV-68-cal, ami fontos lehet a HPV-vel kapcsolatos karcinogenezissel kapcsolatos vizsgálatok szempontjából. A ME-180 sejtek a fertőző betegségek kutatásában is értékesek a különböző vírusokkal szembeni érzékenységük miatt. A sejtvonalat több vírussal, köztük influenza- és myxovírusokkal való kölcsönhatás tanulmányozására használták. A ME-180 sejtek bizonyították, hogy képesek tartós fertőzést kialakítani néhány myxovírussal, így hasznos modellnek bizonyultak a víruslátencia és a vírusfertőzés rákos sejtekre gyakorolt hosszú távú hatásainak tanulmányozására. A rákos eredet, a vírusérzékenység és a specifikus növekedési jellemzők kombinációja a ME-180 sejtet sokoldalú eszközzé teszi mind az onkológiai, mind a virológiai kutatásban.
Organism	Emberi
Tissue	Méh, méhnyak
Disease	Epidermoid karcinóma
Metastatic site	Omentum
Synonyms	Me-180, ME 180, ME180

Jellemzők

Age	66 év
Gender	Női
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Epithelszerű

Product sheet

ME-180 sejtek | 300196

Cell type	Epithelialis
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	ME-180 (Cytion katalógusszám: 300196)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1401

Biomolekuláris adatok

Viruses	HPV68 pozitív

A kezelése

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/L glükóz, w: stabil glutamin, w: 2,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,2 g/L NaHCO3 (Cytion cikkszám: 820200a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	1×10^{4} sejt/cm^2
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal

ME-180 sejtek | 300196

Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket 5 x 10^4 sejt/cm^2 sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.
Thawing and Culturing Cells	1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák. 2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség. 3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad. 4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal. 5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz. 6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót. 7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében. 8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.
Flask Coating	Nincs

ME-180 sejtek | 300196

Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.