

"MeWo" ląstelės | 300285**Bendra informacija****Description**

"MeWo" ląstelių linija yra fibroblastinė melanomos ląstelių linija, išskirta iš 78 metų baltaodžio paciento, sergančio piktybine melanoma, odos. Šioms ląstelėms būdinga morfologija, atspindinti jų fibroblastinę kilmę. MeWo ląstelės yra vertingos vėžio tyrimams, ypač tiriant melanomos biologines savybes ir imuninės sistemos sąveiką. Kaip ir kitos melanomos ląstelių linijos, MeWo ląstelės buvo naudingos tiriant naviko antigenus ir jų imunogeniškumą. Įvairiuose tyrimuose "MeWo" ląstelės buvo naudojamos siekiant nustatyti specifinius paviršiaus antigenus, kurie yra labai svarbūs norint suprasti, kaip melanomos ląstelės sąveikauja su imunine sistema.

Viena iš žymių MeWo ląstelių savybių yra jų gebėjimas palaikyti varicella-zoster viruso (VZV) izoliatų augimą, optimaliomis augimo sąlygomis 32 °C temperatūroje, nors jos gali palaikyti VZV augimą ir 36 °C temperatūroje. Dėl to MeWo ląstelių linija ypač naudinga virusologiniuose tyrimuose, ypač atliekant viruso replikacijos ir patogenezės tyrimus skirtingomis temperatūros sąlygomis. Be to, MeWo ląstelės yra navikinės, nes jos gali formuoti navikus, įšvirkštos į nuogas peles; ši savybė pabrėžia jų naudingumą in vivo navikiškumo tyrimuose. Ši savybė kartu su jų reaktyvumu į virusinę infekciją rodo, kad MeWo ląstelės yra universalus vėžio ir infekcinių ligų tyrimų modelis.

Tyrimuose su MeWo ląstelių linija taip pat buvo tiriama su melanoma susijusių antigenų raiška, MeWo buvo naudojama kaip etaloninė ląstelių linija absorbciniuose tyrimuose, siekiant nustatyti unikalius ir bendrus antigenus skirtinguose melanomos mėginiuose. Šių tyrimų metu nustatytas MeWo ląstelių antigeninis profilis apima antigenus, kurie yra bendri su kitomis melanomos ląstelių linijomis, taip pat tuos, kurie gali būti būdingi tik šiai ląstelių linijai, taip prisidedant prie platesnio melanomos imunologijos supratimo.

Organism

Žmogus

Tissue

Odos

Disease

Odos melanoma

Metastatic site

Limfmazgis

Applications

Virusų tyrimai

Synonyms

MEWO, Mewo, Me Wo, Me Wo, Me-Wo, Mevo, SK-MEL-MeWo, Mel-MeWo, BI-Mel, EST50

Charakteristikos**Age**

78 metai

Gender

Vyras

Ethnicity

Kaukazičių

"MeWo" ląstelės | 300285**Morphology** | fibroblastus panašus**Growth properties** Prigludęs**Reguliavimo duomenys****Citation** MeWo (Cytion katalogo numeris 300285)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0445**Biomolekuliniai duomenys****Tumorigenic** Piktybinės melanomos formos**Products** Melaninas**MSI-status** Stabilus (MSS)**Mutational profile** BRAF V600E wt**Tvarkymas****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

"MeWo" ląstelės | 300285**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium**

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere37 °C, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.**Flask Coating**

Nėra

"MeWo" ląstelės | 300285

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

A*: '02:01:01, '26:01:01
B*: '14:02:01, '38:01:01
C*: '08:02:01, '12:03:01
DRB1*: '01:02:01, '11:01:01G
DQA1*: '01:01:02, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01G, '05:01:01G
DPB1*: '04:01:01G, '04:02:01G
E: '01:xx, '01:03:01