Product sheet

ME-180 ląstelės | 300196

Bendra informacija

Description	ME-180 ląstelių linija yra epitelinių ląstelių linija, sukurta iš labai invazinės plokščialąstelinės karcinomos, kuri iš pradžių buvo išskirta iš 66 metų baltaodės pacientės gimdos kaklelio karcinomos metastazių. Karcinomai buvo būdingi netaisyklingi ląstelių telkiniai be žymesnės keratinizacijos ir minimali nekrozė. Ši ląstelių linija dėl savo kilmės ir agresyvumo yra ypač svarbi vėžio tyrimams, ypač tyrimams, susijusiems su gimdos kaklelio vėžiu ir kitomis plokščialąstelinės karcinomos formomis. ME-180 ląstelės yra tumorigeninės ir buvo įrodyta, kad implantuotos į nuogas peles jos suformuoja gerai diferencijuotas epidermoidines karcinomas. ME-180 ląstelės pasižymi keliomis unikaliomis savybėmis, įskaitant heteroploidinį kariotipą su subtriploidiniu režimu, rodančiu nestabilią chromosomų išsidėstymą. Ląstelės pasižymi tipiška epitelio morfologija su daugybe desmosomų ir tonofibrilių, joms nebūdingas kontaktinis slopinimas, todėl kultūroje jos dažnai auga sluoksniuotai. Ląstelių linijos augimą slopina naviko nekrozės faktorius alfa (TNF alfa), todėl ji naudinga atliekant tyrimus, kuriais tiriamas uždegiminių citokinų poveikis naviko ląstelėms. Be to, ME-180 ląstelėse yra žmogaus papilomos viruso (ŽPV) DNR, kurios homologiškumas su ŽPV-68 yra didesnis nei su ŽPV-18, o tai gali būti aktualu su ŽPV susijusios kancerogenezės tyrimams. ME-180 ląstelės taip pat vertingos infekcinių ligų tyrimams dėl jų jautrumo įvairiems virusams. Ši ląstelių linija buvo naudojama sąveikai su keliais virusais, įskaitant gripo ir miksovirusus, tirti. Nustatyta, kad ME-180 ląstelės geba sudaryti ilgalaikes infekcijas su kai kuriais miksovirusais, todėl jos yra naudingas modelis tiriant virusų latentiškumą ir ilgalaikį virusinės infekcijos poveikį vėžinėms ląstelėms. Dėl vėžinės kilmės, jautrumo virusams ir specifinių augimo savybių derinio ME-180 ląstelės yra universalus įrankis tiek onkologiniams, tiek virusologiniams tyrimams.
Organism	Žmogus
Tissue	Gimda, gimdos kaklelis
Disease	Epidermoidinė karcinoma
Metastatic site	Omentumas
Synonyms	Me-180, ME 180, ME180

Charakteristikos

Age	66 metai
Gender	Moteris
Ethnicity	Kaukaziečių
Morphology	Į epitelį panašus

ME-180 ląstelės | 300196

Cell type	Epitelis
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	ME-180 (Cytion katalogo numeris 300196)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1401

Biomolekuliniai duomenys

Viruses	ŽPV68 teigiamas

Tvarkymas

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/l gliukozės, w: stabilus glutaminas, w: 2,0 mM natrio piruvatas, w: 2,2 g/l NaHCO3 (Cytion gaminio numeris 820200a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
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 perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	1 x 10^4 ląstelės/cm^2
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę

ME-180 ląstelės | 300196

Post-Thaw Recovery	Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5 x 10^4 ląstelių/cm^2 tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.
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 švariu 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 x 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 Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra

ME-180 ląstelės | 300196

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 ir molekulinė analizė

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.