

MEC-1 šūnas | 305434

Vispārīga informācija

Description

MEC-1 šūnu līnija ir iegūta no pacienta ar hronisku limfocitāro leukēmiju (CLL) prolimfocitveida transformācijas stadijā. Tā kalpo kā būtisks modelis B šūnu ļaundabīgo audzēju bioloģijas izpētei, jo īpaši CLL pamatā esošo molekulāro mehānismu un tās reakciju uz terapijām izpētei. MEC-1 šūnas raksturo CD19 un CD5 marķieru ekspresija, kas atbilst to izcelsmei no CLL, un tās plaši izmanto, lai pētītu ķīmijterapijas rezistences mehānismus un metaboliskās adaptācijas leukēmijā.

Pētījumi, kuros izmantotas MEC-1 šūnas, ir snieguši ieskatu mijiedarbībā starp audzēja mikrovidē un leukēmijas šūnu izdzīvošanu. Piemēram, šī šūnu līnija ir bijusi izšķiroša, identificējot rezistences mehānismus pret mērķtiecīgām terapijām, piemēram, pret Bcl-2 antagonistu venetoklaksu. Rezistentajos MEC-1 atvasinājumos (MEC-1 VER) ir novērota p38 MAPK pārmērīga ekspresija un izmaiņas proapoptotisko un antiapoptotisko proteīnu ekspresijā. Tas uzsvēr iespēju mērķtiecīgi ietekmēt tādus signālceļus kā p38 MAPK un imūnoproteasomu, lai pārvarētu rezistenci pret zālēm.

Hipoksijas apstākļos MEC-1 šūnas parāda metabolisko pārprogrammēšanu, kas veicina to izdzīvošanu un proliferāciju. Šī adaptācija ietver glikozes transportētāju, piemēram, GLUT1 un GLUT3, paaugstinātu ekspresiju, kā arī izmaiņas glikolīzē un laktāta ražošanā, kuras regulē hipoksijas induciblie faktori (HIF). Turklāt pētījumi, kuros ar CRISPR/Cas9 palīdzību tika izslēgti konkrēti mikroRNA, piemēram, miR-155, ir atklājuši to lomu MEC-1 šūnu vielmaiņas un proliferācijas regulēšanā hipoksiskā stresa apstākļos, tādējādi pavērojot jaunas iespējas terapeitiskai iejaukšanai.

Organism

Cilvēks

Tissue

Perifērās asinis

Disease

Hroniska limfocītiskā leukēmija

Synonyms

MEC1

Raksturojums

Age

61 gads

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Limfoblastiem līdzīgs

Cell type

B šūna

MEC-1 šūnas | 305434

Growth properties

Suspensija, atsevišķas šūnas un viegli salīpušas, nelielas agregātu grupas

Normatīvie dati**Citation** MEC-1 (Cytion kataloga numurs 305434)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1870**Biomolekulārie dati****Viruses** Transformants: Epšteina-Barra vīruss (EBV)**Mutational profile** Mutācija: TP53, p.Gln317Profs*20 (c.949dupC) (c.949_950insC), homozigota; Gēnu fūzija: R3HCC1L-HTRA1**Darbs ar****Culture Medium** IMDM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM nātrija piruvāta, w: 3,024 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820800a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Seeding density** 3–5 × 10⁵/ml**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

MEC-1 šūnas | 305434

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

MEC-1 šūnas | 305434

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.