Product sheet

ME-180 šūnas | 300196

Vispārīga informācija

Description	ME-180 šūnu līnija ir epitēlija šūnu līnija, kas izveidota no ļoti invazīvas plakanšūnu karcinomas, kura sākotnēji tika izdalīta no 66 gadus vecas baltādainas pacientes dzemdes kakla karcinomas metastāzēm. Karcinomai bija raksturīgas neregulāras šūnu kopas bez ievērojamas keratinizācijas un minimāla nekroze. Šī šūnu līnija ir īpaši nozīmīga vēža pētījumiem, jo īpaši pētījumos, kas saistīti ar dzemdes kakla vēzi un citām plakanšūnu karcinomas formām, tās izcelsmes un agresīvā rakstura dēļ. ME-180 šūnas ir tumorigēnas, un ir pierādīts, ka tās, implantējot nude pelēm, veido labi diferencētas epidermoīdās karcinomas. ME-180 šūnām piemīt vairākas unikālas īpašības, tostarp heteroploīds kariotips ar subtriploīdu režīmu, kas norāda uz nestabilu hromosomu izkārtojumu. Šīm šūnām ir tipiska epitēlija morfoloģija ar daudzām desmosomām un tonofibrilām, un tām nepiemīt kontakta inhibīcija, kas kultūrā bieži noved pie slāņainas augšanas. Šūnu līnijas augšanu kavē audzēja nekrozes faktors alfa (TNF alfa), tāpēc tā ir noderīga pētījumos, kuros pēta iekaisuma citokīnu ietekmi uz audzēja šūnām. Turklāt ME-180 šūnas satur cilvēka papilomas vīrusa (HPV) DNS, kam ir augstāka homoloģija ar HPV-68 salīdzinājumā ar HPV-18, kas varētu būt svarīgi ar HPV saistītās kancerogēnāzes pētījumos. ME-180 šūnas ir vērtīgas arī infekcijas slimību pētījumos, jo tās ir jutīgas pret dažādiem vīrusiem. Šūnu līnija ir izmantota, lai pētītu mijiedarbību ar vairākiem vīrusiem, tostarp gripas un miksovīriem. ME-180 šūnas ir pierādījušas spēju veidot noturīgas infekcijas ar dažiem miksovīriem, padarot tās par noderīgu modeli vīrusu latences un vīrusu infekcijas ilgtermiņa ietekmes uz vēža šūnām izpētei. ME-180 vēža izcelsmes, vīrusu uzņēmības un specifisko augšanas īpašību kombinācija padara ME-180 par daudzpusīgu instrumentu gan onkoloģiskajos, gan virusoloģiskajos pētījumos.
Organism	Cilvēks
Tissue	Dzemde, dzemdes kakls
Disease	Epidermoīdā karcinoma
Metastatic site	Omentums
Synonyms	Me-180, ME 180, ME180

Raksturojums

Age	66 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Epitēlijveidīgs

Product sheet

ME-180 šūnas | 300196

Cell type	Epitēlija
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	ME-180 (Cytion kataloga numurs 300196)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1401

Biomolekulārie dati

Viruses	HPV68 pozitīvs

Darbs ar

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/l glikoze, w: stabils glutamīns, w: 2,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820200a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Seeding density	1 x 10^4 šūnas/cm^2
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā

ME-180 šūnas | 300196

Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izkliedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5 x 10^4 šūnas/cm^2 un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.
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.
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%$_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens

Freezing Procedure	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.
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 slāpeklī 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

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.