

Komórki MEC-1 | 305434

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa MEC-1 pochodzi od pacjenta z przewlekłą białaczką limfocytową (CLL) w stadium transformacji prolimfocytowej. Stanowi ona kluczowy model do badania biologii nowotworów z komórek B, a w szczególności mechanizmów molekularnych leżących u podstaw CLL oraz reakcji tej choroby na terapię. Komórki MEC-1 charakteryzują się ekspresją markerów CD19 i CD5, co jest zgodne z ich pochodzeniem z CLL, i są szeroko wykorzystywane do badania mechanizmów oporności na chemioterapię oraz adaptacji metabolicznych w białaczce.

Badania z wykorzystaniem komórek MEC-1 dostarczyły wiedzy na temat wzajemnego oddziaływania między mikrośrodowiskiem nowotworowym a przeżywalnością komórek białaczkowych. Na przykład ta linia komórkowa odegrała kluczową rolę w identyfikacji mechanizmów oporności na terapię celowaną, takie jak antagonisty Bcl-2 – wenetoklaks. W opornych pochodnych linii MEC-1 (MEC-1 VER) zaobserwowano nadekspresję p38 MAPK oraz zmiany w ekspresji białek proapoptotycznych i antyapoptotycznych. Podkreśla to potencjał ukierunkowania działań na szlaki, takie jak p38 MAPK i immunoproteasom, w celu przełamania oporności na leki.

W warunkach hipoksji komórki MEC-1 wykazują przeprogramowanie metaboliczne, które wspiera ich przeżycie i proliferację. Adaptacja ta obejmuje zwiększoną ekspresję transporterów glukozy, takich jak GLUT1 i GLUT3, a także zmiany w glikolizie i produkcji mleczanu, które są regulowane przez czynniki indukowane hipoksją (HIF). Ponadto badania dotyczące delecji określonych mikroRNA, takich jak miR-155, za pomocą CRISPR/Cas9, ujawniły ich rolę w regulacji metabolizmu i proliferacji komórek MEC-1 w warunkach stresu hipoksyjnego, otwierając tym samym nowe możliwości interwencji terapeutycznej.

Organism

Człowiek

Tissue

Krew obwodowa

Disease

Przewlekła białaczka limfocytowa

Synonyms

MEC1

Charakterystyka

Age

61 lat

Gender

Mężczyzna

Ethnicity

Kaukaski

Morphology

Podobne do limfoblastów

Cell type

Komórka B

Komórki MEC-1 | 305434**Growth properties**

Zawiesina, pojedyncze komórki i lekko przylegające, małe agregaty

Dane regulacyjne**Citation** MEC-1 (numer katalogowy Cytion 305434)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1870**Dane biomolekularne****Viruses** Transformant: Wirus Epsteina-Barr (EBV)**Mutational profile** Mutacja: TP53, p.Gln317Profs*20 (c.949dupC) (c.949_950insC), homozygotyczna; Fuzja genów: R3HCC1L-HTRA1**Obsługa****Culture Medium** IMDM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM pirogronianu sodu, w: 3,024 g/l NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820800a)**Supplements** Uzupełnić podłoże 10% FBS**Seeding density** $3-5 \times 10^5$ /ml**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki MEC-1 | 305434

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Komórki MEC-1 | 305434

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.