

Komórki MS751 | 305115**Informacje ogólne****Description**

MS751 to nowotworowa linia komórek ludzkiego raka szyjki macicy wyizolowana z macicy pacjentki z rakiem naskórka. Komórki zostały pierwotnie uzyskane z przerzutowego węzła chłonnego i tworzą słabo zróżnicowanego raka naskórka (stopień III) po ksenoprzeszczepieniu na nagich myszach. Nowotworowy i przerzutowy charakter komórek MS751 sprawia, że są one cennym modelem do badania procesów związanych z przerzutami raka szyjki macicy i progresją nowotworu. Komórki te są szczególnie przydatne do badania przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT), inwazji i przerzutów, zwłaszcza w odniesieniu do słabo zróżnicowanego raka.

Jedną z kluczowych cech molekularnych MS751 jest obecność sekwencji wirusa brodawczaka ludzkiego (HPV). Pierwotnie donoszono, że zawiera HPV-18, nowsze badania wykazały, że komórki MS751 zawierają częściowe sekwencje HPV-45, szczególnie z regionu E6/E7, które są wyrażane jako poli(A)+ RNA. Onkoproteiny E6 i E7 są dobrze znane ze swojej roli w zakłócaniu funkcji supresorowych guza, odpowiednio p53 i Rb, które promują niekontrolowany podział komórek i przyczyniają się do onkogenezy. Obecność tych sekwencji wirusowych sprawia, że MS751 jest bardzo istotna dla badań nad nowotworami szyjki macicy związanymi z HPV, a w szczególności dla zbadania, w jaki sposób HPV-45 przyczynia się do złośliwości komórek szyjki macicy.

Komórki MS751 wykazują morfologię nabłonkową, która jest charakterystyczna dla wielu linii komórkowych raka szyjki macicy. Są one szeroko wykorzystywane do badań nad mechanizmami molekularnymi leżącymi u podstaw kancerogenezy, w której pośredniczy HPV, a także do odkrywania leków i badań terapeutycznych. Biorąc pod uwagę ich przerzutowe pochodzenie i obecność sekwencji HPV, MS751 stanowi istotny model do badania progresji raka szyjki macicy i testowania strategii terapeutycznych ukierunkowanych zarówno na szlaki wirusowe, jak i związane z nowotworem.

Organism Człowiek**Tissue** Szyjka macicy**Disease** Rak płaskonabłonkowy szyjki macicy związany z wirusem brodawczaka ludzkiego**Metastatic site** Węzeł chłonny**Synonyms** MS-751, MS 751**Charakterystyka****Age** 47 lat**Gender** Europejski**Morphology** Nabłonek

Komórki MS751 | 305115**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** MS751 (numer katalogowy Cytion 305115)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4996**Dane biomolekularne****Antigen expression** Grupa krwi AB, Rh**Tumorigenic** Tak, u nagich myszy tworzy słabo zróżnicowanego raka naskórka (stopień).**Viruses** HPV18, HPV45**Obsługa****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements** Uzpełnić pożywkę 10% FBS, 1% NEAA i 1,0 mM pirogronianu sodu**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** 1:2 do 1:4**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu

Komórki MS751 | 305115**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.

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 próbówki 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.

Flask Coating

Brak

Komórki MS751 | 305115

Freezing Procedure

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.

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.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone 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.