

Bunky ME-180 | 300196**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia ME-180 je epitelová bunková línia vytvorená z vysoko invazívneho spinocelulárneho karcinómu, ktorý bol pôvodne izolovaný z omentálnej metastázy karcinómu krčka maternice u 66-ročnej bielej pacientky. Karcinóm bol charakterizovaný nepravidelnými zhlukmi buniek bez výraznej keratinizácie a minimálnou nekrózou. Táto bunková línia je pre svoj pôvod a agresívny charakter mimoriadne významná pre výskum rakoviny, najmä v štúdiách týkajúcich sa karcinómu krčka maternice a iných foriem skvamocelulárneho karcinómu. Bunky ME-180 sú tumorigénne a bolo preukázané, že po implantácii do nahých myší vytvárajú dobre diferencované epidermoidné karcinómy.

Bunky ME-180 majú niekoľko jedinečných vlastností vrátane heteroploidného karyotypu so subtriploidným režimom, čo naznačuje nestabilné chromozomálne usporiadanie. Bunky vykazujú typickú epitelovú morfológiu s početnými desmozómami a tonofibrilami a nevykazujú kontaktnú inhibíciu, čo často vedie k vrstevnatému rastu v kultúre. Rast bunkovej línie je inhibovaný faktorom nekrózy nádoru alfa (TNF alfa), čo ju robí užitočnou pre štúdie skúmajúce účinky zápalových cytokínov na nádorové bunky. Okrem toho bunky ME-180 obsahujú DNA ľudského papilomavírusu (HPV) s vyššou homológiou s HPV-68 v porovnaní s HPV-18, čo by mohlo byť dôležité pre štúdie karcinogenézy súvisiacej s HPV.

Bunky ME-180 sú cenné aj vo výskume infekčných chorôb vďaka svojej citlivosti na rôzne vírusy. Bunková línia sa použila na štúdium interakcie s viacerými vírusmi vrátane chrípkových a myxovírusov. Bunky ME-180 preukázali schopnosť vytvárať perzistentné infekcie s niektorými myxovírusmi, čo z nich robí užitočný model na štúdium latencie vírusov a dlhodobých účinkov vírusovej infekcie na rakovinové bunky. Kombinácia rakovinového pôvodu, náchylnosti na vírusy a špecifických rastových vlastností robí z ME-180 univerzálny nástroj v onkologickom aj virologickom výskume.

Organism

Ľudské

Tissue

Maternica, krčok maternice

Disease

Epidermoidný karcinóm

Metastatic site

Omentum

Synonyms

Me-180, ME 180, ME180

Charakteristika**Age**

66 rokov

Gender

Ženy

Ethnicity

Kaukazský

Morphology

Epitelu podobné

Bunky ME-180 | 300196**Cell type** Epitelové**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** ME-180 (katalógové číslo Cytion 300196)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1401**Biomolekulárne údaje****Viruses** HPV68 pozitívny**Spracovanie****Culture Medium** McCoys 5a, w: 3,0 g/l glukóza, w: stabilný glutamín, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO₃ (číslo článku Cytion 820200a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Seeding density** 1 x 10⁴ buniek/cm²**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne

Bunky ME-180 | 300196**Post-Thaw Recovery**

Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Bunky ME-180 | 300196

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.