

Клетки MET-5A | 305269

Обща информация

Description

Клетъчната линия MET-5A е получена от мезотелиални клетки на плеврата на възрастен човек и често се използва при изследвания, свързани с мезотелиом - вид рак, засягащ мезотелиалната обвивка на белите дробове, корема и сърцето. Тези клетки са от решаващо значение за изучаване на биологията, патогенезата и лечението на мезотелиома, особено за разбирането на това как факторите на околната среда, като например излагането на азбест, водят до развитието на този рак. Клетките MET-5A се използват също така за изследване на механизмите на клетъчна трансформация, туморната прогресия и клетъчния отговор към различни химиотерапевтични средства.

Клетките MET-5A показват типична епителна морфология и запазват характеристиките на нормалните мезотелни клетки, включително експресията на мезотелни маркери като цитокератин и виментин. Тези клетки реагират на възпалителни стимули и могат да се използват за изучаване на възпалителните процеси, участващи в патогенезата на мезотелиома. Изследователите използват клетките MET-5A за изследване на генетичните и молекулярните промени, свързани с мезотелиома, както и за тестване на ефикасността и токсичността на потенциални терапевтични съединения. Значението на MET-5A клетките за моделиране на биологията на мезотелните клетки и ролята им в изследванията на мезотелиома ги превръща в основен инструмент за подобряване на разбирането и лечението на този агресивен рак.

Organism

Човек

Tissue

Бял дроб, плевра

Synonyms

MeT-5A, MeT 5A, MeT5A, Met5A, MET5A, мезотелни клетки, трансфектирани с pRSV-T 5A

Характеристики

Age

Възрастни

Gender

Мъжки

Morphology

Епителиален

Cell type

Мезотелиална клетка

Growth properties

Придържачи се

Регулаторни данни

Citation

MET-5A (каталожен номер 305269 на Cytion)

Клетки MET-5A | 305269

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3749**GMO Status** GMO-S1: Тази човешка мезотелиална клетъчна линия (MET-5A) съдържа SV40 Т-антиген конструкт, въведен чрез плазмидна трансфекция, което позволява безсмъртие. Конструктът е стабилно интегриран в мезотелиалните клетки. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression Виментин, кератини, SV40 Т антиген**Tumorigenic** Не**Viruses** Трансформатор: Simian virus 40 (SV40)

Работа с

Culture Medium Среда 199, w: 1,5 g/L NaHCO₃

Supplements

Допълнете средата с 15% FBS, 15 mM HEPES, 1% ITS+

Микроелементите в следните крайни концентрации:

H₂SeO₃ 0,3869 mg/L (селинова киселина)MnCl₂×4H₂O 0,0198 mg/L (манганов хлорид)Na₂SiO₃×9H₂O 14,2100 mg/L (натриев силикат)(NH₄)₆Mo₇O₂₄×4H₂O 0,1236 mg/L (амониев молибдат)NH₄VO₃ 0,0585 mg/L (амониев ванадат)NiSO₄×6H₂O 0,0131 mg/L (никелов сулфат)SnCl₂×2H₂O 0,0113 mg/L (калаен хлорид)**Dissociation Reagent** Accutase

Клетки MET-5A | 305269

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки MET-5A | 305269

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки MET-5A | 305269

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.