

Клетки MB49 | 305240

Обща информация

Description

Клетъчната линия MB49 е миши модел, получен от епителните клетки на пикочния мехур на мишка C57BL/6. Първоначално е разработена за изследване на рака на пикочния мехур, като предоставя платформа за изследване на биологичните и молекулярните характеристики на уротелиалния карцином. Клетъчната линия е създадена чрез химическо индуциране на тумори на пикочния мехур с помощта на канцерогена 7,12-диметилбенз[а]антрацен (DMBA), както е описано подробно в ранните изследователски проучвания. Клетките MB49 проявяват туморогенен фенотип, когато се трансплантират в сингенни мишки, образувайки уротелиални карциноми. Тези тумори често са слабо диференцирани и могат да показват смесена морфология, включително вретеновидни клетки и аденокарциноматозни области, които наподобяват агресивни подтипове на рак на пикочния мехур, наблюдавани в човешката патология.

По-нататъшните изследвания доведоха до разработването на MB49-I, по-инвазивна подлиния на MB49. Тази подлиния е създадена след 13 последователни пасажи *in vivo*, което увеличава нейния инвазивен и метастатичен потенциал. Клетките MB49-I показват повишена протеолитична активност, особено при ензими като катепсин В, матриксна металопротеиназа 9 (MMP-9) и плазминогенен активатор от урокиназен тип (uPA). Тези ензими допринасят за разграждането на компонентите на извънклетъчния матрикс, като улесняват инвазията и метастазирането на туморните клетки. Подлинията MB49-I, когато се инокулира ортотопично в пикочния мехур на сингенни мишки, води до образуване на силно инвазивни тумори на пикочния мехур, което я прави ценен модел за изучаване на туморната прогресия и тестване на противоракови терапии, насочени към предотвратяване на инвазията и метастазирането.

Моделът MB49, включително вариантът MB49-I, е от съществено значение за разбирането на молекулярните механизми, лежащи в основата на прогресията на рака на пикочния мехур, и за разработването на нови терапевтични стратегии. Моделът наподобява в голяма степен човешкия рак на пикочния мехур, особено по отношение на способността му да симулира инвазивните и метастатичните характеристики на заболяването, като по този начин осигурява надеждна система за предклинични изследвания.

Organism Мишка

Tissue Пикочен мехур

Disease Преходноклетъчен карцином на пикочния мехур при мишки

Synonyms MB-49

Характеристики

Breed/Subspecies C57BL/ICRF-a(t)

Age Възрастни

Gender Мъжки

Клетки MB49 | 305240

Morphology Епителиален

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation MB49 (каталожен номер 305240 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_7076

Биомолекулярни данни

Karyotype Загубил е хромозома Y

Работа с

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

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 ресуспендирате, 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.

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 MB49 | 305240

**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 MB49 | 305240

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.