

Клетки от сарком Meth A | 400284

Обща информация

Description

Клетките на сарком Meth A, произхождащи от химически индуциран тумор при мишки Balb/c, представляват важен модел за разбиране на туморната биология и молекулярните механизми, които определят развитието на саркома. Ключов аспект от изследванията на саркома клетките Meth A включва изучаването на свързания с трансформацията протеин p53, известен с ролята си за потискане на туморите. Обикновено p53 е силно лабилен, но стабилността му е значително повишена в много фибросаркомни клетъчни линии, получени от тумори, индуцирани от физични или химични агенти. Това стабилизиране често корелира с образуването на стабилен комплекс със сродния протеин на топлинния шок hsc70.

Интересно е, че саркомните клетки от Meth A показват уникално поведение по отношение на стабилността на p53. Въпреки че p53 е много стабилен в тези клетки, не се открива взаимодействие с hsc70. Това предполага, че невъзможността да се образува такъв комплекс вероятно се дължи на първичната структура на ендегенния p53. Когато други варианти на p53 се въведат в клетките на саркома Meth A, се образува комплекс p53-hsc70, което показва, че първичната структура на p53 е критичен фактор за взаимодействието му с hsc70 и следователно за неговата стабилност.

По-нататъшни изследвания, използващи експерименти със стабилна трансфекция, разкриха, че различните варианти на p53 се разграждат с различна скорост в различни трансформирани клетъчни типове, което подчертава ролята на първичната структура на p53 при определяне на скоростта на оборота му. Освен това клетъчната среда също оказва влияние върху стабилността на p53, както се вижда от различната скорост на разграждане на поне един вариант на p53 в нетрансформирани клетки BALB/c-3T3 в сравнение с трансформирани клетки на фибросарком. Това подчертава сложното взаимодействие между генетичните фактори и клетъчния контекст при регулирането на стабилността и функцията на p53 в клетките на саркома от Meth A.

Organism Мишка

Tissue Кожа

Disease Фибросарком

Synonyms Meth A, Meth-A, Meth-A-sarkom

Характеристики

Breed/Subspecies BALB/c

Age Възрастни

Gender Жена

Morphology Кръгли клетки

Клетки от сарком Meth A | 400284

Growth properties	Окачване
--------------------------	----------

Регулаторни данни

Citation	Сарком Meth A (каталожен номер 400284 на Cytion)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_5798
-----------------------------	-----------

Биомолекулярни данни

Tumorigenic	Да
--------------------	----

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
--------------------	-----------------------------

Doubling time	28 до 30 часа
----------------------	---------------

Subculturing	Оставете клетъчните агрегати да се утаят на дъното на колбата, изхвърлете супернатантната среда, разпръснете клетките с леко пипетиране и ги прехвърлете в нови колби. Ресуспендирайте клетъчната суспензия в колбата и вземете представителна аликвота, за да преброите броя на клетките на мл. Разредете клетъчната суспензия до 1×10^5 клетки/мл с прясна среда и прехвърлете в нови колби.
---------------------	---

Seeding density	Започнете нови култури, използвайки 2 до 3×10^6 клетки/ml. След като клетките се възстановят от процеса на замразяване и размразяване след 1 до 2 пасажа, коригирайте плътността на клетките до 1×10^6 клетки/ml при разделянето на клетките.
------------------------	---

Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
----------------------	----------------------

Post-Thaw Recovery	След замразяването са събрани около 53% от първоначалния брой клетки.
---------------------------	---

Клетки от сарком Meth A | 400284**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.

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 $300 \times g$ 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

Клетки от сарком Meth A | 400284

Freezing Procedure

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.

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.