

Buňky MET-5A | 305269

Obecné informace

Description

Buněčná linie MET-5A je odvozena z mezoteliálních buněk pohrudnice dospělého člověka a často se používá ve výzkumu mezoteliomu, což je typ rakoviny postihující mezoteliální výstelku plic, břicha a srdce. Tyto buňky mají zásadní význam pro studium biologie, patogeneze a léčby mezoteliomu, zejména pro pochopení toho, jak faktory životního prostředí, jako je expozice azbestu, vedou ke vzniku této rakoviny. Buňky MET-5A se také používají ke zkoumání mechanismů buněčné transformace, progresu nádoru a buněčných reakcí na různé chemoterapeutické látky.

Buňky MET-5A vykazují typickou epiteliální morfologii a zachovávají si vlastnosti normálních mezoteliálních buněk, včetně exprese mezoteliálních markerů, jako je cytokeratin a vimentin. Tyto buňky reagují na zánětlivé podněty a lze je použít ke studiu zánětlivých procesů, které se podílejí na patogenezi mezoteliomu. Vědci využívají buňky MET-5A ke zkoumání genetických a molekulárních změn spojených s mezoteliomem a také k testování účinnosti a toxicity potenciálních terapeutických sloučenin. Význam buněk MET-5A při modelování biologie mezoteliálních buněk a jejich úloha ve výzkumu mezoteliomu z nich činí základní nástroj pro lepší pochopení a léčbu tohoto agresivního nádorového onemocnění.

Organism

Člověk

Tissue

Plíce, pohrudnice

Synonyms

MeT-5A, MeT 5A, MeT5A, Met5A, MET5A, mezotelové buňky transfekované pRSV-T 5A

Charakteristika

Age

Dospělí

Gender

Muži

Morphology

Epitelové

Cell type

Mezotelová buňka

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Citation

MET-5A (katalogové číslo Cytion 305269)

Biosafety level

1

Buňky MET-5A | 305269

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3749**GMO Status** GMO-S1: Tato linie lidských mezoteliálních buněk (MET-5A) obsahuje konstrukt SV40 T-Antigen zavedený pomocí transfekce plazmidů, což umožňuje imortalizaci. Konstrukt je stabilně integrován do mezoteliálních buněk. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.**Biomolekulární data****Protein expression** Vimentin, keratiny, SV40 T antigen**Tumorigenic** Ne**Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)**Zpracování****Culture Medium** Médium 199, w: 1,5 g/l NaHCO₃**Supplements**

Doplňte médium o 15 % FBS, 15 mM HEPES, 1 % ITS+

Stopové prvky v následujících konečných koncentracích:

H₂SeO₃ 0,3869 mg/l (kyselina selenová)MnCl₂×4H₂O 0,0198 mg/l (chlorid manganatý)Na₂SiO₃×9H₂O 14,2100 mg/l (křemičitan sodný)(NH₄)₆Mo₇O₂₄×4H₂O 0,1236 mg/l (molybdenan amonný)NH₄VO₃ 0,0585 mg/l (vanadičnan amonný)NiSO₄×6H₂O 0,0131 mg/l (síran nikelnatý)SnCl₂×2H₂O 0,0113 mg/l (chlorid cínatý)**Dissociation Reagent** Accutase

Buňky MET-5A | 305269

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:2 až 1:4

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Buňky MET-5A | 305269

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating Žádný

Freezing Procedure Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.