

Buňky MB49 | 305240

Obecné informace

Description

Buněčná linie MB49 je myší model odvozený z epitelových buněk močového měchýře myši C57BL/6. Původně byla vyvinuta ke studiu rakoviny močového měchýře a poskytuje platformu pro zkoumání biologických a molekulárních vlastností uroteliálního karcinomu. Buněčná linie byla vytvořena chemickou indukci nádorů močového měchýře pomocí karcinogenu 7,12-dimethylbenz[a]antracenu (DMBA), jak bylo podrobně popsáno v prvních výzkumných studiích. Buňky MB49 vykazují při transplantaci do syngenních myší nádorový fenotyp a vytvářejí uroteliální karcinomy. Tyto nádory jsou často špatně diferencované a mohou vykazovat smíšenou morfolologii, včetně vřetenovitých buněk a adenokarcinomatózních oblastí, které se podobají agresivním podtypům karcinomu močového měchýře pozorovaným v lidské patologii.

Další výzkum vedl k vývoji MB49-I, invazivnější sublinie MB49. Tato podlinie byla vytvořena po 13 po sobě jdoucích pasážích in vivo, čímž se zvýšil její invazivní a metastatický potenciál. Buňky MB49-I vykazují zvýšenou proteolytickou aktivitu, zejména enzymů, jako je katepsin B, matrixová metaloproteináza 9 (MMP-9) a aktivátor plazminogenu typu urokinázy (uPA). Tyto enzymy přispívají k rozkladu složek extracelulární matrix, což usnadňuje invazi a metastazování nádorových buněk. Podlinie MB49-I vede po ortotopické inokulaci do močového měchýře syngenních myší k tvorbě vysoce invazivních nádorů močového měchýře, což z ní činí cenný model pro studium progresu nádorů a testování protinádorových terapeutik zaměřených na prevenci invaze a metastazování.

Tento model MB49, včetně varianty MB49-I, má zásadní význam pro pochopení molekulárních mechanismů, které jsou základem progresu rakoviny močového měchýře, a pro vývoj nových terapeutických strategií. Tento model věrně napodobuje lidský karcinom močového měchýře, zejména pokud jde o schopnost simulovat invazivní a metastatické charakteristiky onemocnění, a poskytuje tak robustní systém pro preklinické studie.

Organism

Myš

Tissue

Močový měchýř

Disease

Karcinom z přechodných buněk myšího močového měchýře

Synonyms

MB-49

Charakteristika

Breed/Subspecies

C57BL/ICRF-a(t)

Age

Dospělí

Gender

Muži

Morphology

Epitelové

Buňky MB49 | 305240

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Citation

MB49 (katalogové číslo Cytion 305240)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_7076

Biomolekulární data

Karyotype

Ztratil chromozom Y

Zpracování

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements

Doplňte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

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.

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 kryo.

Buňky MB49 | 305240

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, 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.

**Incubation
Atmosphere**37 °C, 5 % CO_2 , 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.

Buňky MB49 | 305240

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 a molekulární analýza

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.