

Meth A sarkomové buňky | 400284**Obecné informace****Description**

Sarkomové buňky Meth A, pocházející z chemicky indukovaného nádoru u myši Balb/c, představují zásadní model pro pochopení biologie nádorů a molekulárních mechanismů, které jsou příčinou vzniku sarkomu. Klíčovým aspektem výzkumu sarkomových buněk Meth A je studium proteinu p53 souvisejícího s transformací, který je známý svou úlohou při potlačování nádorů. Typicky je p53 vysoce labilní, ale jeho stabilita je výrazně zvýšena v mnoha fibrosarkomových buněčných liniích odvozených z nádorů vyvolaných fyzikálními nebo chemickými látkami. Tato stabilizace často koreluje s tvorbou stabilního komplexu s příbuzným proteinem tepelného šoku hsc70.

Zajímavé je, že sarkomové buňky Meth A vykazují jedinečné chování, pokud jde o stabilitu p53. Přestože je p53 v těchto buňkách velmi stabilní, nedochází u něj k detekovatelné interakci s hsc70. To naznačuje, že neschopnost vytvořit takový komplex je pravděpodobně způsobena primární strukturou endogenního p53. Když se do buněk sarkomu Meth A vnesou jiné varianty p53, komplex p53-hsc70 se vytvoří, což naznačuje, že primární struktura p53 je rozhodující pro jeho interakci s hsc70 a následně pro jeho stabilitu.

Další zkoumání pomocí stabilních transfekčních experimentů odhalilo, že různé varianty p53 jsou v různých transformovaných typech buněk degradovány různou rychlostí, což zdůrazňuje roli primární struktury p53 při určování rychlosti jeho obratu. Kromě toho buněčné prostředí také ovlivňuje stabilitu p53, jak dokládá rozdílná rychlost degradace alespoň jedné varianty p53 v netransformovaných buňkách BALB/c-3T3 ve srovnání s transformovanými buňkami fibrosarkomu. To poukazuje na složitou souhru genetických faktorů a buněčného kontextu při regulaci stability a funkce p53 v buňkách sarkomu Meth A.

Organism	Myš
Tissue	Kůže
Disease	Fibrosarkom
Synonyms	Meth A, Meth-A, Meth-A-sarkom

Charakteristika

Breed/Subspecies	BALB/c
Age	Dospělí
Gender	Ženy
Morphology	Kulaté buňky
Growth properties	Zavěšení

Meth A sarkomové buňky | 400284**Regulační údaje**

Citation	Sarkom Meth A (katalogové číslo Cytion 400284)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5798

Biomolekulární data

Tumorigenic	Ano
--------------------	-----

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Doubling time	28 až 30 hodin
Subculturing	Nechte buněčné agregáty usadit se na dně baňky, zlikvidujte supernatantní médium, rozptýlte buňky jemným pipetováním a rozdělte je do nových baněk. Resuspendujte buněčnou suspenzi v baňce a odeberte reprezentativní alikvotní část pro spočítání počtu buněk na ml. Zředte buněčnou suspenzi na 1x10 ⁵ buněk/ml čerstvým médiem a přeneste do nových baněk.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:4 až 1:8
Seeding density	Nové kultury zahajte s použitím 2 až 3 x 10 ⁶ buněk/ml. Jakmile se buňky zotaví z procesu zmrazení a rozmrazení po 1 až 2 pasážích, při dělení buněk upravte hustotu buněk na 1 x 10 ⁶ buněk/ml.
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Post-Thaw Recovery	Po zmrazení bylo získáno přibližně 53 % původního počtu buněk.
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.

Meth A sarkomové buňky | 400284**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.

**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.

Meth A sarkomové buňky | 400284

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 vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,y