Product sheet

Κύτταρα σαρκώματος Meth A | 400284

Γενικές πληροφορίες

Description	Τα κύτταρα σαρκώματος Meth A, που προέρχονται από χημικά επαγόμενο όγκο σε ποντίκια Balb/c, αποτελούν ένα κρίσιμο μοντέλο για την κατανόηση της βιολογίας του όγκου και των μοριακών μηχανισμών που οδηγούν στην ανάπτυξη του σαρκώματος. Μια βασική πτυχή της έρευνας των κυττάρων σαρκώματος Meth A περιλαμβάνει τη μελέτη της πρωτεΐνης p53, που σχετίζεται με τον μετασχηματισμό και είναι γνωστή για τον ρόλο της στην καταστολή των όγκων. Τυπικά, η p53 είναι εξαιρετικά ευμετάβλητη, αλλά η σταθερότητά της αυξάνεται σημαντικά σε πολλές κυτταρικές σειρές ινοσαρκώματος που προέρχονται από όγκους που προκαλούνται από φυσικούς ή χημικούς παράγοντες. Αυτή η σταθεροποίηση συσχετίζεται συχνά με το σχηματισμό σταθερού συμπλόκου με τη συγγενή πρωτεΐνη θερμικού σοκ hsc70. Είναι ενδιαφέρον ότι τα κύτταρα σαρκώματος Meth A παρουσιάζουν μοναδική συμπεριφορά όσον αφορά τη σταθερότητα του p53. Παρά το γεγονός ότι η p53 είναι πολύ σταθερή σε αυτά τα κύτταρα, δεν υπάρχει ανιχνεύσιμη αλληλεπίδραση με την hsc70. Αυτό υποδηλώνει ότι η αδυναμία σχηματισμού ενός τέτοιου συμπλόκου οφείλεται πιθανότατα στην πρωτογενή δομή της ενδογενούς p53. Όταν άλλες παραλλαγές του p53 εισάγονται σε κύτταρα σαρκώματος Meth A, σχηματίζεται σύμπλοκο p53-hsc70, υποδεικνύοντας ότι η πρωτογενής δομή του p53 είναι κρίσιμος καθοριστικός παράγοντας της αλληλεπίδρασής του με το hsc70 και, κατά συνέπεια, της σταθερότητάς του. Περαιτέρω έρευνες με τη χρήση πειραμάτων σταθερής διαμόλυνσης αποκάλυψαν ότι οι διάφορες παραλλαγές p53 αποικοδομούνται με διαφορετικούς ρυθμούς σε διάφορους μετασχηματισμένους τύπους κυττάρων, τονίζοντας τον ρόλο της πρωτογενούς δομής της p53 στον καθορισμό του ρυθμού εναλλαγής της. Επιπλέον, το κυτταρικό περιβάλλον επηρεάζει επίσης τη σταθερότητα του p53, όπως αποδεικνύεται από τους διαφορετικούς ρυθμούς αποικοδόμησης τουλάχιστον μιας παραλλαγής του p53 σε μη μετασχηματισμένα κύτταρα BALB/c-3T3 σε σύγκριση με μετασχηματισμένα κύτταρα ινοσαρκώματος. Αυτό αναδεικνύει την πολύπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ γενετικών παραγόντων και κυτταρικού περιβάλλοντος στη ρύθμιση της σταθερότητας και της λειτουργίας του p53 σε κύτταρα σαρκώματος Meth A.
Organism	Ποντίκι
Tissue	Δέρμα
Disease	Ινοσάρκωμα
Synonyms	Meth A, Meth-A, Meth-A-sarkom

Χαρακτηριστικά

Breed/Subspecies	BALB/c
Age	Ενηλίκων
Gender	Γυναίκα

Κύτταρα σαρκώματος Meth A | 400284

Morphology	Στρογγυλά κύτταρα
Growth properties	Αναστολή

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	Σάρκωμα Meth A (αριθμός καταλόγου Cytion 400284)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5798

Βιομοριακά δεδομένα

Tumorigenic	Ναι

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Doubling time	28 έως 30 ώρες
Subculturing	Αφήστε τα συσσωματώματα κυττάρων να κατακαθίσουν στον πυθμένα της φιάλης, απορρίψτε το υπερκείμενο μέσο, διασκορπίστε τα κύτταρα με απαλό πιπέττημα και μεταφέρετε τα σε νέες φιάλες. Ανακατέψτε ξανά το κυτταρικό εναιώρημα στη φιάλη και πάρτε ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα για να μετρήσετε τον αριθμό των κυττάρων ανά ml. Αραιώστε το κυτταρικό εναιώρημα σε $1x10^5$ κύτταρα/ml με φρέσκο μέσο και μεταφέρετε το σε νέες φιάλες.
Seeding density	Ξεκινήστε νέες καλλιέργειες χρησιμοποιώντας 2 έως 3 x 10^6 κύτταρα/ml. Μόλις τα κύτταρα ανακάμψουν από τη διαδικασία κατάψυξης και απόψυξης μετά από 1 έως 2 περάσματα, ρυθμίστε την πυκνότητα των κυττάρων σε 1 x 10^6 κύτταρα/ml κατά τη διαίρεση των κυττάρων.
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Περίπου το 53% του αρχικού αριθμού κυττάρων συλλέχθηκε μετά την κατάψυξη.

Κύτταρα σαρκώματος Meth A | 400284

Freeze medium

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Κύτταρα σαρκώματος Meth A | 400284

Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.