

MET-5A rakud | 305269

Üldine teave

Description

MET-5A rakuliin on saadud inimese täiskasvanud inimese kopsukelme mesoteelirakkudest ja seda kasutatakse sageli mesotelioomi (kopsude, kõhu ja südame mesoteelioloogilist voorderdist mõjutav vähitüüp) uurimisel. Need rakud on üliolulised mesotelioomi bioloogia, patogeneesi ja ravi uurimiseks, eelkõige selleks, et mõista, kuidas keskkonnategurid, näiteks asbestiga kokkupuude, põhjustavad selle vähi teket. MET-5A rakke kasutatakse ka rakkude muundumise, kasvaja progresseerumise ja rakkude vastuse uurimiseks erinevatele kemoterapeutilistele ainetele.

MET-5A rakkudel on tüüpiline epiteeli morfoloogia ja nad säilitavad normaalsete mesoteelirakkude omadused, sealhulgas mesoteeli markerite, nagu tsütokeratiini ja vimentini, ekspressiooni. Need rakud reageerivad põletikuliste stiimulite ja neid saab kasutada mesotelioomi patogeneesis osalevate põletikuprotsesside uurimiseks. Teadlased kasutavad MET-5A rakke mesotelioomiga seotud geneetiliste ja molekulaarsete muutuste uurimiseks, samuti võimalike terapeutiliste ühendite tõhususe ja toksilisuse testimiseks. MET-5A rakkude tähtsus mesoteelirakkude bioloogia modelleerimisel ja nende roll mesotelioomi uurimisel teeb neist olulise vahendi selle agressiivse vähktõve mõistmise ja ravi edendamiseks.

Organism

Inimene

Tissue

Kops, kopsukelme

Synonyms

MeT-5A, MeT 5A, MeT5A, Met5A, MET5A, pRSV-T 5A abil transfektedirud mesoteelirakud

Omadused

Age

Täiskasvanud

Gender

Mees

Morphology

Epiteel

Cell type

Mesoteeli rakk

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

MET-5A (Cytioni katalooginumber 305269)

Biosafety level

1

MET-5A rakud | 305269**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3749**GMO Status** GMO-S1: See inimese mesoteeli rakuliin (MET-5A) sisaldab plasmiiditransfektsiooni teel sissetoodud SV40 T-antigeeni konstruktsiooni, mis võimaldab immortaliseerimist. Konstruktsioon on stabiilselt integreeritud mesoteelirakkudesse. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.**Biomolekulaarsed andmed****Protein expression** Vimentiin, keratiinid, SV40 T antigeen**Tumorigenic** Ei**Viruses** Transformant: simian virus 40 (SV40)**Töötlemine****Culture Medium** Keskkond 199, w: 1,5 g/L NaHCO₃**Supplements**

Täiendatakse keskkonda 15% FBS, 15 mM HEPES, 1% ITS+ga

Mikroelemente järgmistes lõppkontsentratsioonides:

H₂SeO₃ 0,3869 mg/L (seleenhape)MnCl₂×4H₂O 0,0198 mg/L (mangaankloriid)Na₂SiO₃×9H₂O 14,2100 mg/L (naatriumsilikaat)(NH₄)₆Mo₇O₂₄×4H₂O 0,1236 mg/l (ammooniummolübdaat)NH₄VO₃ 0,0585 mg/L (ammooniumvanadaat)NiSO₄×6H₂O 0,0131 mg/l (niksulfaat)SnCl₂×2H₂O 0,0113 mg/l (tinakloriid)**Dissociation Reagent** Accutase

MET-5A rakud | 305269

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspenseerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating Puudub

MET-5A rakud | 305269

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.