

Meth A sarkoomi rakud | 400284**Üldine teave****Description**

Meth A sarkoomirakud, mis pärinevad Balb/c-hiirte keemiliselt indutseeritud kasvajast, on oluline mudel kasvajate bioloogia ja sarkoomi arengut juhtivate molekulaarmehhanismide mõistmiseks. Meth A sarkoomirakkude uurimise oluline aspekt on transformeerumisega seotud valgu p53 uurimine, mis on tuntud oma rolli poolest kasvajate pärssimises. Tavaliselt on p53 väga labiilne, kuid selle stabiilsus on märgatavalt suurenenud paljudes fibrosarkoomi rakuliinides, mis on saadud füüsikaliste või keemiliste ainetega indutseeritud kasvajatest. See stabiliseerumine on sageli seotud stabiilse kompleksi moodustamisega soojusšokivalkoopi hsc70-ga.

Huvitaval kombel on Meth A sarkoomirakkudel ainulaadne käitumine seoses p53 stabiilsusega. Hoolimata sellest, et p53 on nendes rakkudes väga stabiilne, ei ole tuvastatav koostoime hsc70-ga. See viitab sellele, et sellise kompleksi moodustamise võimetus on tõenäoliselt tingitud endogeense p53 primaarsest struktuurist. Kui Meth A sarkoomi rakkudes viiakse teisi p53 variante, moodustub p53-hsc70 kompleks, mis näitab, et p53 esmane struktuur on kriitiline tegur, mis määrab selle koostoime hsc70-ga ja seega ka stabiilsuse.

Edasised uuringud stabiilse transfektsiooni katsete abil on näidanud, et erinevad p53-variandid lagunevad eri tüüpi transformeeritud rakkudes erineva kiirusega, mis rõhutab p53 primaarse struktuuri rolli p53 käibemäära määramisel. Lisaks sellele mõjutab p53 stabiilsust ka rakukeskkond, nagu näitab vähemalt ühe p53 variandi erinev lagunemiskiirus transformeerimata BALB/c-3T3 rakkudes võrreldes transformeeritud fibrosarkoomirakkudega. See toob esile geneetiliste tegurite ja rakukonteksti keerulise koosmõju p53 stabiilsuse ja funktsiooni reguleerimisel Meth A sarkoomi rakkudes.

Organism	Hiir
Tissue	Nahk
Disease	Fibrosarkoom
Synonyms	Meth A, Meth-A, Meth-A-sarkom

Omadused

Breed/Subspecies	BALB/c
Age	Täiskasvanud
Gender	Naised
Morphology	Ümmargused rakud
Growth properties	Peatamine

Meth A sarkoomi rakud | 400284**Regulatiivsed andmed**

Citation	Meth A sarkoom (Cytioni katalooginumber 400284)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5798

Biomolekulaarsed andmed

Tumorigenic	Jah
--------------------	-----

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Doubling time	28-30 tundi
Subculturing	Laske rakkude agregaatidel settida kolbi põhja, visake supernatant ära, hajutage rakud õrnalt pipeteerides ja jaotage uude kolbi. Resuspendeerige rakususpensioon kolbis ja võtke representatiivne alikvoot, et loendada rakkude arv ml kohta. Lahjendage rakususpensioon värske keskkonnaga 1×10^5 rakku/ml ja kandke uude kolbi.
Seeding density	Alustage uusi kultuure, kasutades $2-3 \times 10^6$ rakku/ml. Kui rakud on pärast 1-2 passaaži külmutamis- ja sulatamisprotsessist taastunud, reguleerige rakkude jagamisel rakkude tihedus 1×10^6 rakku/ml.
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast külmutamist koguti umbes 53% esialgsest rakkude arvust.
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.

Meth A sarkoomi rakud | 400284

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Meth A sarkoomi rakud | 400284

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.