

MET-5A-solut | 305269

Yleisiä tietoja

Description

MET-5A-solulinja on peräisin ihmisen aikuisen keuhkopussin mesoteelisoluista, ja sitä käytetään usein mesoteliooman tutkimuksessa. Kyseessä on syöpätyyppi, joka vaikuttaa keuhkojen, vatsaontelon ja sydämen mesoteelivuoriin. Nämä solut ovat ratkaisevan tärkeitä mesoteliooman biologian, patogeneesin ja hoidon tutkimisessa ja erityisesti sen ymmärtämisessä, miten ympäristötekijät, kuten asbestialtistus, johtavat tämän syövän kehittymiseen. MET-5A-soluja käytetään myös solumuutoksen mekanismien, kasvaimen etenemisen ja soluvasteiden tutkimiseen erilaisille kemoterapeuttisille aineille.

MET-5A-soluilla on tyypillinen epiteelimorfologia, ja niissä on normaalien mesoteelisolujen ominaisuuksia, kuten mesoteelin merkkiaineiden, kuten sytokeratiinin ja vimentiniin, ilmentyminen. Nämä solut reagoivat tulehdusärsykkeisiin, ja niitä voidaan käyttää mesoteliooman patogeneesiin liittyvien tulehdusprosessien tutkimiseen. Tutkijat käyttävät MET-5A-soluja mesotelioomaan liittyvien geneettisten ja molekulaaristen muutosten tutkimiseen sekä mahdollisten terapeuttisten yhdisteiden tehokkuuden ja toksisuuden testaamiseen. MET-5A-solujen merkitys mesoteelisolujen biologian mallintamisessa ja niiden rooli mesotelioomatutkimuksessa tekevät niistä olennaisen tärkeän välineen tämän aggressiivisen syövän ymmärtämisen ja hoidon edistämiseksi.

Organism

Ihminen

Tissue

Keuhkot, keuhkopussi

Synonyms

MeT-5A, MeT 5A, MeT5A, Met5A, MET5A, Mesoteelisolut, jotka on transfektoitu pRSV-T 5A:lla

Ominaisuudet

Age

Aikuiset

Gender

Mies

Morphology

Epiteeli

Cell type

Mesoteelisolu

Growth properties

Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation

MET-5A (Cytionin luettelonumero 305269)

Biosafety level

1

MET-5A-solut | 305269

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3749**GMO Status** GMO-S1: Tämä ihmisen mesoteelisolulinja (MET-5A) sisältää plasmiditransfektion avulla käyttöön otetun SV40 T-Antigeenikonstruktion, joka mahdollistaa kuolemattomuuden. Konstruktio on integroitunut vakaasti mesoteelisoluihin. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.**Biomolekyylitiedot****Protein expression** Vimentiini, keratiinit, SV40 T-antigeeni**Tumorigenic** Ei**Viruses** Transformantti: Simian virus 40 (SV40)**Käsittely****Culture Medium** Väliaine 199, w: 1,5 g/L NaHCO₃**Supplements**

Täydennetään elatusainetta 15 % FBS:llä, 15 mM HEPES:llä, 1 %:lla ITS+

Hivenaineita seuraavissa lopullisissa pitoisuuksissa:

H₂SeO₃ 0,3869 mg/l (seleenihappo)MnCl₂×4H₂O 0,0198 mg/L (mangaanikloridi)Na₂SiO₃×9H₂O 14,2100 mg/L (natriumsilikaatti)(NH₄)₆Mo₇O₂₄×4H₂O 0,1236 mg/L (Ammoniummolybdaatti)NH₄VO₃ 0,0585 mg/L (Ammoniumvanadaatti)NiSO₄×6H₂O 0,0131 mg/L (nikkelisulfaatti)SnCl₂×2H₂O 0,0113 mg/L (tinakloridi)**Dissociation Reagent** Accutase

MET-5A-solut | 305269

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

MET-5A-solut | 305269

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating Ei mitään

Freezing Procedure Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.