

Met A-sarkooma Solut | 400284**Yleisiä tietoja****Description**

Balb/c-hiirten kemiallisesti indusoidusta kasvaimesta peräisin olevat Meth A -sarkoomasolut ovat tärkeä malli kasvainten biologian ja sarkooman kehittymistä ohjaavien molekyylimekanismien ymmärtämiseksi. Meth A -sarkoomasolujen tutkimuksessa keskeistä on tutkia transformaatioon liittyvää proteiinia p53, joka tunnetaan roolistaan kasvainten tukahduttamisessa. Tyypillisesti p53 on erittäin labiili, mutta sen stabiilisuus on selvästi lisääntynyt monissa fibrosarkoomasolulinjoissa, jotka ovat peräisin fysikaalisten tai kemiallisten aineiden aiheuttamista kasvaimista. Tämä stabiiloituminen korreloi usein stabiilin kompleksin muodostumisen kanssa lämpösokkiproteiini hsc70:n kanssa.

Mielenkiintoista on, että Meth A -sarkoomasolut käyttäytyvät ainutlaatuisesti p53:n vakauden suhteen. Vaikka p53 on näissä soluissa hyvin stabiili, vuorovaikutusta hsc70:n kanssa ei ole havaittavissa. Tämä viittaa siihen, että kyvyttömyys muodostaa tällaista kompleksia johtuu todennäköisesti endogeenisen p53:n primaarirakenteesta. Kun Meth A -sarkoomasoluihin siirretään muita p53:n variantteja, p53-hsc70-kompleksi muodostuu, mikä osoittaa, että p53:n primaarirakenne on ratkaiseva tekijä sen vuorovaikutuksessa hsc70:n kanssa ja näin ollen sen vakaudessa.

Jatkotutkimukset, joissa käytettiin vakaita transfektiokokeita, ovat paljastaneet, että eri p53-variantit hajoavat eri nopeudella eri transformoiduissa solutyypeissä, mikä korostaa p53:n primaarirakenteen merkitystä sen vaihtumisnopeuden määrittämisessä. Lisäksi solu ympäristö vaikuttaa myös p53:n vakauteen, kuten ainakin yhden p53-variantin erilainen hajoamisnopeus ei-transformoituneissa BALB/c-3T3-soluissa verrattuna transformoituneisiin fibrosarkoomasoluihin osoittaa. Tämä korostaa geneettisten tekijöiden ja solukontekstin monimutkaista vuorovaikutusta p53:n stabiilisuuden ja toiminnan säätelyssä Meth A -sarkoomasoluissa.

Organism

Hiiri

Tissue

Iho

Disease

Fibrosarkooma

Synonyms

Meth A, Meth-A, Meth-A-sarkom

Ominaisuudet**Breed/Subspecies**

BALB/c

Age

Aikuiset

Gender

Nainen

Morphology

Pyöreät kennot

Growth properties

Jousitus

Met A-sarkooma Solut | 400284**Säätelytiedot**

Citation	Met A-sarkooma (Cytionin luettelonumero 400284)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5798

Biomolekyyli tiedot

Tumorigenic	Kyllä
--------------------	-------

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Doubling time	28-30 tuntia
Subculturing	Anna soluyhdisteiden laskeutua pullon pohjalle, hävitä supernatantti, hajota solut varovasti pipetoimalla ja jaa uuteen pulloon. Suspendoi solususpensio pullossa ja ota edustava aliquot solujen lukumäärän laskemiseksi millilitrassa. Laimenna solususpensio 1×10^5 solua/ml tuoreella väliaineella ja siirrä uuteen pulloon.
Seeding density	Aloita uudet viljelmät käyttämällä $2-3 \times 10^6$ solua/ml. Kun solut ovat toipuneet pakastamisesta ja sulatuksesta 1-2 siirron jälkeen, säädä solutiheys 1×10^6 solua/ml soluja jakamalla.
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Post-Thaw Recovery	Noin 53 % alkuperäisestä solumäärästä saatiin kerättyä jäädyttämisen jälkeen.
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.

Met A-sarkooma Solut | 400284

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$: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-prosenttisella 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 $300 \times g$: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.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Met A-sarkooma Solut | 400284

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.