

MET-5A sejtek | 305269

Általános információk

Description

A MET-5A sejtvonal az emberi felnőttek mellhártyájának mesothelsejtjeiből származik, és gyakran használják a mesotheliomával kapcsolatos kutatásokban, amely a tüdő, a has és a szív mesothelialis bélését érintő daganattípus. Ezek a sejtek kulcsfontosságúak a mezotelióma biológiájának, patogenezisének és kezelésének tanulmányozásában, különösen annak megértésében, hogy az olyan környezeti tényezők, mint az asbesztnak való kitettség hogyan vezetnek e rák kialakulásához. A MET-5A sejteket a sejtek átalakulásának, a tumor progressziójának és a különböző kemoterápiás szerekre adott sejtválaszoknak a feltárására is használják.

A MET-5A sejtek tipikus epiteliális morfológiát mutatnak, és megőrzik a normál mezoteliális sejtek jellemzőit, beleértve a mezoteliális markereket, például a citokeratin és a vimentin expresszióját. Ezek a sejtek reagálnak a gyulladáshoz vezető ingerekre, és felhasználhatók a mezotelióma patogenezisében szerepet játszó gyulladáshoz vezető folyamatok tanulmányozására. A kutatók a MET-5A sejteket a mezoteliómához kapcsolódó genetikai és molekuláris változások vizsgálatára, valamint a potenciális terápiás vegyületek hatékonyságának és toxicitásának tesztelésére használják. A MET-5A sejtek jelentősége a mezoteliális sejtek biológiájának modellezésében és a mezotelióma kutatásában betöltött szerepük miatt alapvető eszköznek számítanak ezen agresszív rákbetegség megértésének és kezelésének előmozdításában.

Organism

Emberi

Tissue

Tüdő, mellhártya

Synonyms

MeT-5A, MeT 5A, MeT5A, Met5A, MET5A, pRSV-T 5A-val transzfektált mezoteliális sejtek

Jellemzők

Age

Felnőtt

Gender

Férfi

Morphology

Epithelialis

Cell type

Mesothel sejt

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

MET-5A (Cytion katalógusszám: 305269)

Biosafety level

1

MET-5A sejtek | 305269**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3749**GMO Status** GMO-S1: Ez a humán mezoteliális sejtvonal (MET-5A) egy SV40 T-Antigén konstrukciót tartalmaz, amelyet plazmid transzfekcióval hoztak be, lehetővé téve az immortalizációt. A konstrukció stabilan integrálódik a mezotélisejtekbe. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.**Biomolekuláris adatok****Protein expression** Vimentin, keratinok, SV40 T antigén**Tumorigenic** Nem**Viruses** Transzformáns: Simian virus 40 (SV40)**A kezelése****Culture Medium** Közeg 199, w: 1,5 g/L NaHCO₃**Supplements**

A táptalajt egészítsük ki 15% FBS-szel, 15 mM HEPES-szel, 1% ITS+

A nyomelemeket a következő végső koncentrációkban:

H₂SeO₃ 0,3869 mg/L (szelénsav)MnCl₂×4H₂O 0,0198 mg/l (mangán-klorid)Na₂SiO₃×9H₂O 14,2100 mg/l (nátrium-szilikát)(NH₄)₆Mo₇O₂₄×4H₂O 0,1236 mg/l (ammónium-molibdát)NH₄VO₃ 0,0585 mg/l (ammónium-vanadát)NiSO₄×6H₂O 0,0131 mg/l (nikkelsulfát)SnCl₂×2H₂O 0,0113 mg/l (ónklorid)**Dissociation Reagent** Accutase

MET-5A sejtek | 305269

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

MET-5A sejtek | 305269

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, párasított légkör.

Flask Coating Nincs

Freezing Procedure A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.