

Cellule MET-5A | 305269

Informazioni generali

Description

La linea cellulare MET-5A deriva dalle cellule mesoteliali della pleura di un adulto umano e viene spesso utilizzata nella ricerca sul mesotelioma, un tipo di cancro che colpisce il rivestimento mesoteliale dei polmoni, dell'addome e del cuore. Queste cellule sono fondamentali per studiare la biologia, la patogenesi e il trattamento del mesotelioma, in particolare per capire come i fattori ambientali, come l'esposizione all'amianto, portino allo sviluppo di questo tumore. Le cellule MET-5A sono utilizzate anche per esplorare i meccanismi di trasformazione cellulare, la progressione tumorale e le risposte cellulari a vari agenti chemioterapici.

Le cellule MET-5A presentano una tipica morfologia epiteliale e conservano le caratteristiche delle normali cellule mesoteliali, compresa l'espressione di marcatori mesoteliali come la citocheratina e la vimentina. Queste cellule sono reattive agli stimoli infiammatori e possono essere utilizzate per studiare i processi infiammatori coinvolti nella patogenesi del mesotelioma. I ricercatori impiegano le cellule MET-5A per studiare le alterazioni genetiche e molecolari associate al mesotelioma e per testare l'efficacia e la tossicità di potenziali composti terapeutici. La rilevanza delle cellule MET-5A nel modellare la biologia delle cellule mesoteliali e il loro ruolo nella ricerca sul mesotelioma le rendono uno strumento essenziale per progredire nella comprensione e nel trattamento di questo tumore aggressivo.

Organism

Umano

Tissue

Polmone, pleura

Synonyms

MeT-5A, MeT 5A, MeT5A, Met5A, MET5A, Cellule mesoteliali trasfettate con prsv-T 5A

Caratteristiche

Age

Adulti

Gender

Uomo

Morphology

Epiteliale

Cell type

Cellula mesoteliale

Growth properties

Aderente

Dati normativi

Citation

MET-5A (numero di catalogo Cytion 305269)

Cellule MET-5A | 305269

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_3749

GMO Status

GMO-S1: questa linea cellulare mesoteliale umana (MET-5A) contiene un costrutto SV40 T-Antigen introdotto tramite trasfezione plasmidica, che consente l'immortalizzazione. Il costrutto è integrato in modo stabile nelle cellule mesoteliali. Questa classificazione si applica solo in Germania e può variare altrove.

Dati biomolecolari

Protein expression

Vimentina, cheratine, antigene SV40 T

Tumorigenic

No

Viruses

Trasformante: Simian virus 40 (SV40)

Manipolazione

Culture Medium

Terreno 199, w: 1,5 g/L NaHCO₃

Supplements

Integrare il terreno di coltura con 15% FBS, 15 mM HEPES, 1% ITS+

Gli oligoelementi alle seguenti concentrazioni finali:

H₂SeO₃ 0,3869 mg/L (acido selenio)MnCl₂×4H₂O 0,0198 mg/L (cloruro di manganese)Na₂SiO₃×9H₂O 14,2100 mg/L (silicato di sodio)(NH₄)₆Mo₇O₂₄×4H₂O 0,1236 mg/L (molibdato di ammonio)NH₄VO₃ 0,0585 mg/L (Vanadato di ammonio)NiSO₄×6H₂O 0,0131 mg/L (Solfato di nichel)SnCl₂×2H₂O 0,0113 mg/L (Cloruro di stagno)

Dissociation Reagent

Accutase

Cellule MET-5A | 305269

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio Si consiglia un rapporto da 1:2 a 1:4

Fluid renewal da 2 a 3 volte alla settimana

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Cellule MET-5A | 305269

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating Nessuno

Freezing Procedure Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.