

Meth A sarkomos ląstelės | 400284**Bendra informacija****Description**

Meth A sarkomos ląstelės, gautos iš cheminiu būdu sukkelto Balb/c pelių naviko, yra labai svarbus naviko biologijos ir molekulinio mechanizmo, lemiančių sarkomos vystymąsi, supratimo modelis. Svarbiausias Meth A sarkomos ląstelių tyrimų aspektas yra su transformacija susijusio baltymo p53, žinomo dėl savo vaidmens slopinant naviką, tyrimas. Paprastai p53 yra labai labilus, tačiau jo stabilumas pastebimai padidėja daugelyje fibrosarkomos ląstelių linijų, gautų iš fizinių ar cheminių medžiagų sukeltų navikų. Šis stabilizavimas dažnai susijęs su stabilaus kompleksu su šiluminio šoko baltymu hsc70 susidarymu.

Įdomu tai, kad Meth A sarkomos ląstelės pasižymi unikaliu elgesiu, susijusiu su p53 stabilumu. Nepaisant to, kad p53 šiose ląstelėse yra labai stabilus, jose neaptinkama sąveika su hsc70. Tai rodo, kad tokio komplekso nesugebėjimą sudaryti greičiausiai lemia pirminė endogeninio p53 struktūra. Kai į Meth A sarkomos ląsteles įterpiami kiti p53 variantai, p53 ir hsc70 kompleksas susidaro, o tai rodo, kad pirminė p53 struktūra lemia jo sąveiką su hsc70, taigi ir jo stabilumą.

Tolesni tyrimai naudojant stabilios transfekcijos eksperimentus atskleidė, kad skirtingi p53 variantai skirtingu greičiu suyra įvairiuose transformuotų ląstelių tipuose, pabrėžiant p53 pirminės struktūros vaidmenį nustatant jo apykaitos greitį. Be to, ląstelės aplinka taip pat turi įtakos p53 stabilumui, kaip matyti iš skirtingo bent vieno p53 varianto skilimo greičio netransformuotose BALB/c-3T3 ląstelėse, palyginti su transformuotomis fibrosarkomos ląstelėmis. Tai rodo sudėtingą genetinių veiksnių ir ląstelinio konteksto sąveiką reguliuojant p53 stabilumą ir funkciją Meth A sarkomos ląstelėse.

Organism

Pelė

Tissue

Odos

Disease

Fibrosarkoma

Synonyms

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

Charakteristikos**Breed/Subspecies**

BALB/c

Age

Suaugusiųjų

Gender

Moteris

Morphology

Apvalios ląstelės

Growth properties

Pakaba

Meth A sarkomos ląstelės | 400284**Reguliavimo duomenys**

Citation	Meth A sarkoma (Cytion katalogo numeris 400284)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5798

Biomolekuliniai duomenys

Tumorigenic	Taip
--------------------	------

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Doubling time	28-30 valandų
Subculturing	Leiskite ląstelių agregatams nusėsti kolbos dugne, išpilkite viršutinį sluoksnį, švelniai pipetuojuant išsklaidykite ląsteles ir perpilkite į naujas kolbas. Pakartotinai suspenduokite ląstelių suspensiją kolboje ir paimkite reprezentatyvią alikvotą dalį, kad suskaičiuotumėte ląstelių skaičių mililitre. Praskieskite ląstelių suspensiją iki 1x10 ⁵ ląstelių/ml šviežia terpe ir perpilkite į naujas kolbas.
Seeding density	Pradėkite naujas kultūras naudodami 2–3 x 10 ⁶ ląstelių/ml. Kai ląstelės atsigaus po užšaldymo ir atšildymo proceso po 1–2 perdavimų, padalindami ląsteles nustatykite ląstelių tankį 1 x 10 ⁶ ląstelių/ml.
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Post-Thaw Recovery	Po užšaldymo buvo surinkta apie 53 % pradinio ląstelių skaičiaus.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Meth A sarkomos ląstelės | 400284

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Meth A sarkomos ląstelės | 400284

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.