

MET-5A šūnas | 305269

Vispārīga informācija

Description

MET-5A šūnu līnija ir iegūta no pieaugušo cilvēku pleiras mezoteliālajām šūnām, un to bieži izmanto pētījumos, kas saistīti ar mezoteliomu - vēža veidu, kas skar plaušu, vēdera un sirds mezoteliālo gļotādu. Šīs šūnas ir ļoti svarīgas mezoteliomas bioloģijas, patoģenēzes un ārstēšanas pētījumos, jo īpaši, lai saprastu, kā vides faktori, piemēram, azbesta iedarbība, izraisa šī vēža attīstību. MET-5A šūnas izmanto arī, lai pētītu šūnu transformācijas mehānismus, audzēja progresēšanu un šūnu reakciju uz dažādiem ķīmijterapeitiskiem līdzekļiem.

MET-5A šūnām ir tipiska epitēlija morfoloģija, un tās saglabā normālu mezoteliālo šūnu īpašības, tostarp tādu mezoteliālo marķieru kā citokeratīna un vimentīna ekspresiju. Šīs šūnas reaģē uz iekaisuma stimuliem, un tās var izmantot, lai pētītu iekaisuma procesus, kas saistīti ar mezoteliomas patoģenēzi. Pētnieki izmanto MET-5A šūnas, lai pētītu ģenētiskās un molekulārās izmaiņas, kas saistītas ar mezoteliomu, kā arī lai pārbaudītu potenciālo terapeitisko savienojumu efektivitāti un toksicitāti. MET-5A šūnu nozīme mezoteliālo šūnu bioloģijas modelēšanā un to loma mezoteliomas pētniecībā padara tās par būtisku līdzekli, lai uzlabotu mūsu izpratni par šo agresīvo vēzi un tā ārstēšanu.

Organism

Cilvēks

Tissue

Plaušas, pleiras

Synonyms

MeT-5A, MeT 5A, MeT5A, MeT5A, Met5A, MET5A, mezoteliālās šūnas, transficētas ar pRSV-T 5A

Raksturojums

Age

Pieaugušo

Gender

Vīrieši

Morphology

Epitēlija

Cell type

Mezoteliālā šūna

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

MET-5A (Cytion kataloga numurs 305269)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

MET-5A šūnas | 305269

CellosaurusAccession CVCL_3749**GMO Status**

GMO-S1: Šī cilvēka mezoteliālo šūnu līnija (MET-5A) satur SV40 T-antigēna konstrukciju, kas ieviesta ar plazmīdu transfekcijas palīdzību, nodrošinot imortalizāciju. Konstrukts ir stabili integrēts mezoteliālajās šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati**Protein expression**

Vimentīns, keratīni, SV40 T antigēns

Tumorigenic

Nē

Viruses

Transformants: Sīmiāna vīruss 40 (SV40)

Darbs ar**Culture Medium**Barotne 199, w: 1,5 g/l NaHCO₃**Supplements**

Papildiniet barotni ar 15 % FBS, 15 mM HEPES, 1 % ITS+

Mikroelementus šādās galīgajās koncentrācijās:

H₂SeO₃ 0,3869 mg/l (selēnskābe)MnCl₂×4H₂O 0,0198 mg/l (mangāna hlorīds)Na₂SiO₃×9H₂O 14,2100 mg/l (nātrija silikāts)(NH₄)₆Mo₇O₂₄×4H₂O 0,1236 mg/l (amonija molibdāts)NH₄VO₃ 0,0585 mg/l (amonija vanadāts)NiSO₄×6H₂O 0,0131 mg/l (niķeļa sulfāts)SnCl₂×2H₂O 0,0113 mg/l (alvas hlorīds)**Dissociation Reagent**

Accutase

MET-5A šūnas | 305269

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

MET-5A šūnas | 305269

Flask Coating Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.