

**Meth A sarkomas šūnas | 400284****Vispārīga informācija****Description**

Meth A sarkomas šūnas, kas iegūtas no ķīmiski inducēta audzēja Balb/c pelēm, ir svarīgs modelis audzēja bioloģijas un molekulāro mehānismu, kas nosaka sarkomas attīstību, izpratnei. Meth A sarkomas šūnu izpētes galvenais aspekts ir ar transformāciju saistītā proteīna p53 izpēte, kas ir pazīstams ar savu lomu audzēju nomākšanā. Parasti p53 ir ļoti labils, bet tā stabilitāte ir ievērojami palielināta daudzās fibrosarkomu šūnu līnijās, kas iegūtas no audzējiem, kurus izraisījuši fizikāli vai ķīmiski līdzekļi. Šī stabilizācija bieži korelē ar stabila kompleksa veidošanos ar siltuma šoka proteīna hsc70 radnieku.

Interesanti, ka Meth A sarkomas šūnām ir unikāla p53 stabilitātes uzvedība. Lai gan p53 šajās šūnās ir ļoti stabils, mijiedarbība ar hsc70 nav konstatējama. Tas liecina, ka nespēja veidot šādu kompleksu, iespējams, ir saistīta ar endogēnā p53 primāro struktūru. Ja Meth A sarkomas šūnās ievada citus p53 variantus, p53-hsc70 komplekss veidojas, kas norāda, ka p53 primārā struktūra ir izšķirošs faktors, kas nosaka tā mijiedarbību ar hsc70 un līdz ar to arī tā stabilitāti.

Turpmāki pētījumi, izmantojot stabilas transfekcijas eksperimentus, atklāja, ka dažādi p53 varianti dažādos transformēto šūnu tipos noārdās atšķirīgi ātri, uzsverot p53 primārās struktūras nozīmi, nosakot tā aprites ātrumu. Turklāt arī šūnu vide ietekmē p53 stabilitāti, par ko liecina atšķirīgais vismaz viena p53 varianta degradācijas ātrums netransformētās BALB/c-3T3 šūnās salīdzinājumā ar transformētām fibrosarkomas šūnām. Tas norāda uz sarežģīto mijiedarbību starp ģenētiskajiem faktoriem un šūnu kontekstu, regulējot p53 stabilitāti un funkciju Meth A sarkomas šūnās.

**Organism**

Pele

**Tissue**

Āda

**Disease**

Fibrosarkoma

**Synonyms**

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

**Raksturojums****Breed/Subspecies**

BALB/c

**Age**

Pieaugušo

**Gender**

Sievietes

**Morphology**

Apaļas šūnas

**Growth properties**

Apturēšana

**Meth A sarkomas šūnas | 400284****Normatīvie dati**

<b>Citation</b>	Meth A sarkoma (Cytion kataloga numurs 400284)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_5798

**Biomolekulārie dati**

<b>Tumorigenic</b>	Jā
--------------------	----

**Darbs ar**

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
<b>Supplements</b>	Papildināt barotni ar 10% FBS
<b>Doubling time</b>	28 līdz 30 stundas
<b>Subculturing</b>	Ļaujiet šūnu agregātiem nogulsnēties kolbas dibenā, izlejiet virsējo šķidrumu, izkļiedējiet šūnas ar vieglu pipetēšanu un pārlejiet jaunās kolbās. Atkārtoti suspendējiet šūnu suspensiju kolbā un ņemiet reprezentatīvu alikvotu, lai skaitītu šūnu skaitu uz ml. Atšķaidiet šūnu suspensiju līdz $1 \times 10^5$ šūnām/ml ar svaigu barotni un pārlejiet jaunās kolbās.
<b>Seeding density</b>	Sāciet jaunas kultūras, izmantojot 2 līdz $3 \times 10^6$ šūnas/ml. Kad šūnas ir atguvušās no sasaldēšanas un atkausēšanas procesa pēc 1 līdz 2 pārnēsumiem, sadalot šūnas, pielāgojiet šūnu blīvumu līdz $1 \times 10^6$ šūnas/ml.
<b>Fluid renewal</b>	2 līdz 3 reizes nedēļā
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Pēc sasaldēšanas tika savākti aptuveni 53 % no sākotnējā šūnu skaita.
<b>Freeze medium</b>	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.

**Meth A sarkomas šūnas | 400284****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%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

**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.

## Meth A sarkomas šūnas | 400284

### 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 pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.