

Komórki MET-5A | 305269**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa MET-5A pochodzi z komórek mezotelialnych opłucnej dorosłego człowieka i jest często wykorzystywana w badaniach związanych z międzybłoniakiem, rodzajem nowotworu atakującego międzybłonkową wyściółkę płuc, brzucha i serca. Komórki te mają kluczowe znaczenie dla badania biologii, patogenezы i leczenia międzybłoniaka, w szczególności w zrozumieniu, w jaki sposób czynniki środowiskowe, takie jak narażenie na azbest, prowadzą do rozwoju tego nowotworu. Komórki MET-5A są również wykorzystywane do badania mechanizmów transformacji komórkowej, progresji nowotworu i odpowiedzi komórkowej na różne środki chemioterapeutyczne.

Komórki MET-5A wykazują typową morfologię nabłonka i zachowują cechy normalnych komórek mezotelialnych, w tym ekspresję markerów mezotelialnych, takich jak cytokeratyna i wimentyna. Komórki te reagują na bodźce zapalne i mogą być wykorzystywane do badania procesów zapalnych zaangażowanych w patogenezę międzybłoniaka. Naukowcy wykorzystują komórki MET-5A do badania zmian genetycznych i molekularnych związanych z międzybłoniakiem, a także do testowania skuteczności i toksyczności potencjalnych związków terapeutycznych. Znaczenie komórek MET-5A w modelowaniu biologii komórek międzybłonka i ich rola w badaniach nad międzybłoniakiem sprawiają, że są one niezbędnym narzędziem do lepszego zrozumienia i leczenia tego agresywnego nowotworu.

Organism

Człowiek

Tissue

Płuca, opłucna

Synonyms

MeT-5A, MeT 5A, MeT5A, Met5A, MET5A, komórki mezotelialne transfekowane pRSV-T 5A

Charakterystyka**Age**

Dorosły

Gender

Męczyzna

Morphology

Nabłonek

Cell type

Komórka mezotelialna

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne**Citation**

MET-5A (numer katalogowy Cytion 305269)

Komórki MET-5A | 305269

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3749**GMO Status** GMO-S1: Ta ludzka linia komórek mezotelialnych (MET-5A) zawiera konstrukt antygenu SV40 T wprowadzony poprzez transfekcję plazmidową, umożliwiając immortalizację. Konstrukt jest stabilnie zintegrowany z komórkami mezotelialnymi. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Protein expression Wimentyna, keratyny, antygen SV40 T**Tumorigenic** Nie**Viruses** Transformant: Simian virus 40 (SV40)

Obsługa

Culture Medium Medium 199, w: 1,5 g/L NaHCO₃

Supplements

Uzupełnić pożywkę 15% FBS, 15 mM HEPES, 1% ITS+

Pierwiastki śladowe w następujących stężeniach końcowych:

H₂SeO₃ 0,3869 mg/L (kwas selenowy)MnCl₂×4H₂O 0,0198 mg/L (chlorek manganu)Na₂SiO₃×9H₂O 14,2100 mg/L (krzemian sodu)(NH₄)₆Mo₇O₂₄×4H₂O 0,1236 mg/L (molibdenian amonu)NH₄VO₃ 0,0585 mg/L (wanadan amonu)NiSO₄×6H₂O 0,0131 mg/L (siarczan niklu)SnCl₂×2H₂O 0,0113 mg/L (chlorek cyny)**Dissociation Reagent** Accutase

Komórki MET-5A | 305269

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:4

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzuć supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Komórki MET-5A | 305269

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, nawilżona atmosfera.

Flask Coating Brak

Freezing Procedure Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.