

Komórki mięsaka Meth A | 400284

Informacje ogólne

Description

Komórki mięsaka Meth A, pochodzące z chemicznie indukowanego guza u myszy Balb/c, stanowią kluczowy model do zrozumienia biologii nowotworów i mechanizmów molekularnych napędzających rozwój mięsaka. Kluczowy aspekt badań nad komórkami mięsaka Meth A obejmuje badanie białka p53 związanego z transformacją, znanego ze swojej roli w hamowaniu nowotworów. Zazwyczaj p53 jest wysoce labilne, ale jego stabilność jest znacznie zwiększona w wielu liniach komórkowych włókniakomięsaka pochodzących z guzów indukowanych czynnikami fizycznymi lub chemicznymi. Stabilizacja ta często koreluje z tworzeniem stabilnego kompleksu z białkiem szoku cieplnego hsc70.

Co ciekawe, komórki mięsaka Meth A wykazują unikalne zachowanie w odniesieniu do stabilności p53. Pomimo tego, że p53 jest bardzo stabilny w tych komórkach, nie ma wykrywalnej interakcji z hsc70. Sugeruje to, że niezdolność do utworzenia takiego kompleksu jest prawdopodobnie spowodowana pierwotną strukturą endogenego p53. Gdy inne warianty p53 są wprowadzane do komórek mięsaka Meth A, tworzy się kompleks p53-hsc70, co wskazuje, że pierwotna struktura p53 jest krytycznym czynnikiem determinującym jego interakcję z hsc70, a w konsekwencji jego stabilność.

Dalsze badania z wykorzystaniem eksperymentów stabilnej transfekcji ujawniły, że różne warianty p53 są degradowane w różnym tempie w różnych typach transformowanych komórek, podkreślając rolę pierwotnej struktury p53 w określaniu szybkości jego obrotu. Dodatkowo, środowisko komórkowe również wpływa na stabilność p53, o czym świadczą różne szybkości degradacji co najmniej jednego wariantu p53 w nietransformowanych komórkach BALB/c-3T3 w porównaniu z transformowanymi komórkami włókniakomięsaka. Podkreśla to złożoną interakcję między czynnikami genetycznymi i kontekstem komórkowym w regulacji stabilności i funkcji p53 w komórkach mięsaka Meth A.

Organism	Mysz
Tissue	Skóra
Disease	Włókniakomięsak
Synonyms	Meth A, Meth-A, Meth-A-sarkom

Charakterystyka

Breed/Subspecies	BALB/c
Age	Dorośli
Gender	Kobieta
Morphology	Okrągłe komórki

Komórki mięsaka Meth A | 400284

Growth properties Zawieszenie

Dane regulacyjne

Citation Mięsak Meth A (numer katalogowy Cytion 400284)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10090

CellosaurusAccession CVCL_5798

Dane biomolekularne

Tumorigenic Tak

Obsługa

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)

Supplements Uzuppełnić podłoże 10% FBS

Doubling time 28 do 30 godzin

Subculturing Pozwól agregatom komórek osiadać na dnie kolby, odrzuć supernatant, rozprowadź komórki delikatnym pipetowaniem i przelej do nowych kolb. Ponownie zawieszaj zawiesinę komórek w kolbie i pobierz reprezentatywną porcję, aby policzyć liczbę komórek na ml. Rozcieńcz zawiesinę komórek do 1×10^5 komórek/ml świeżym podłożem i przenieś do nowych kolb.

Split ratio Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:8

Seeding density Rozpocznij nowe hodowle, używając 2 do 3×10^6 komórek/ml. Gdy komórki odzyskają sprawność po procesie zamrażania i rozmrażania po 1 do 2 pasażach, dostosuj gęstość komórek do 1×10^6 komórek/ml podczas dzielenia komórek.

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Post-Thaw Recovery Po zamrożeniu zebrano około 53% początkowej liczby komórek.

Komórki mięsaka Meth A | 400284

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 $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić 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.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki mięsaka Meth A | 400284

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 fiolki 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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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 wykluczone 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.

Profil STR

Amelogenin: x,y