

Meth A sarkomske celice | 400284**Splošne informacije****Description**

Celice sarkoma Meth A, ki izvirajo iz kemično povzročene tumorja pri miših Balb/c, so ključni model za razumevanje biologije tumorjev in molekularnih mehanizmov, ki spodbujajo razvoj sarkomov. Ključni vidik raziskav sarkomskih celic Meth A vključuje preučevanje beljakovine p53, povezane s transformacijo, ki je znana po svoji vlogi pri zatiranju tumorjev. Običajno je p53 zelo labilen, vendar se njegova stabilnost izrazito poveča v številnih fibrosarkomskih celičnih linijah, ki izhajajo iz tumorjev, povzročenih s fizikalnimi ali kemičnimi dejavniki. Ta stabilizacija je pogosto povezana z oblikovanjem stabilnega kompleksa s sorodnim proteinom toplotnega šoka hsc70.

Zanimivo je, da imajo sarkomske celice Meth A edinstveno vedenje glede stabilnosti p53. Čeprav je p53 v teh celicah zelo stabilen, ni zaznati interakcije s hsc70. To nakazuje, da je nezmožnost tvorbe takšnega kompleksa verjetno posledica primarne strukture endogenega p53. Ko v celice sarkoma Meth A vnesemo druge različice p53, se kompleks p53-hsc70 oblikuje, kar kaže na to, da je primarna struktura p53 odločilna za njegovo interakcijo s hsc70 in posledično za njegovo stabilnost.

Nadaljnje raziskave s poskusi stabilne transfekcije so razkrile, da se različne različice p53 razgrajujejo z različno hitrostjo v različnih vrstah transformiranih celic, kar poudarja vlogo primarne strukture p53 pri določanju hitrosti njegovega obnavljanja. Poleg tega na stabilnost p53 vpliva tudi celično okolje, kar dokazujejo različne stopnje razgradnje vsaj ene različice p53 v netransformiranih celicah BALB/c-3T3 v primerjavi s transformiranimi celicami fibrosarkoma. To kaže na zapleteno medsebojno vplivanje genetskih dejavnikov in celičnega okolja pri uravnavanju stabilnosti in delovanja p53 v sarkomskih celicah Meth A.

Organism Miška**Tissue** Koža**Disease** Fibrosarkom**Synonyms** Meth A, Meth-A, Meth-A-sarkom**Značilnosti****Breed/Subspecies** BALB/c**Age** Odrasli**Gender** Ženske**Morphology** Okrogle celice**Growth properties** Vzmetenje

Meth A sarkomske celice | 400284**Regulativni podatki**

Citation	Sarkom Meth A (kataloška številka Cytion 400284)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_5798

Biomolekularni podatki

Tumorigenic	Da
--------------------	----

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (številka izdelka Cytion 820700a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Doubling time	28 do 30 ur
Subculturing	Pustite, da se agregati celic usedejo na dno kolbe, zavržite supernatantno gojišče, razpršite celice z nežnim pipetiranjem in jih razdelite v nove kolbe. Ponovno suspendirajte suspenzijo celic v kolbi in odzemi reprezentativni alikvot za štetje števila celic na ml. Razredčite suspenzijo celic na 1×10^5 celic/ml s svežim gojiščem in jo prenesite v nove kolbe.
Seeding density	Začnite nove kulture z 2 do 3×10^6 celicami/ml. Ko se celice po 1 do 2 prehodih opomorejo od zamrzovanja in odmrzovanja, pri delitvi celic prilagodite gostoto celic na 1×10^6 celic/ml.
Fluid renewal	2 do 3-krat na teden
Post-Thaw Recovery	Po zamrznitvi je bilo zbranih približno 53 % začetnega števila celic.
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Meth A sarkomske celice | 400284

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Meth A sarkomske celice | 400284

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.