

Cellules de sarcome induites par la méthamphétamine | 400284

Renseignements généraux

Description

Les cellules de sarcome Meth A, issues d'une tumeur induite chimiquement chez des souris Balb/c, constituent un modèle essentiel pour comprendre la biologie tumorale et les mécanismes moléculaires à l'origine du développement du sarcome. Un aspect clé de la recherche sur les cellules de sarcome Meth A porte sur l'étude de la protéine p53, associée à la transformation cellulaire et connue pour son rôle dans la suppression tumorale. Habituellement, la protéine p53 est très labile, mais sa stabilité est nettement accrue dans de nombreuses lignées cellulaires de fibrosarcomes dérivées de tumeurs induites par des agents physiques ou chimiques. Cette stabilisation est souvent associée à la formation d'un complexe stable avec la protéine de choc thermique apparentée hsc70.

Il est intéressant de noter que les cellules de sarcome Meth A présentent un comportement unique en ce qui concerne la stabilité de la protéine p53. Bien que la protéine p53 soit très stable dans ces cellules, aucune interaction détectable avec la protéine hsc70 n'est observée. Cela suggère que l'incapacité à former un tel complexe est probablement due à la structure primaire de la protéine p53 endogène. Lorsque d'autres variants de p53 sont introduits dans les cellules de sarcome Meth A, un complexe p53-hsc70 se forme, ce qui indique que la structure primaire de p53 est un déterminant essentiel de son interaction avec hsc70 et, par conséquent, de sa stabilité.

Des recherches plus approfondies menées à l'aide d'expériences de transfection stable ont révélé que différentes variantes de p53 sont dégradées à des vitesses distinctes dans divers types de cellules transformées, ce qui souligne le rôle de la structure primaire de p53 dans la détermination de son taux de renouvellement. De plus, l'environnement cellulaire influe également sur la stabilité de p53, comme en témoignent les taux de dégradation différents d'au moins une variante de p53 dans les cellules BALB/c-3T3 non transformées par rapport aux cellules de fibrosarcome transformées. Cela met en évidence l'interaction complexe entre les facteurs génétiques et le contexte cellulaire dans la régulation de la stabilité et de la fonction de p53 dans les cellules de sarcome Meth A.

Organism

Souris

Tissue

Peau

Disease

Fibrosarcome

Synonyms

Meth A, Meth-A, sarcome de Meth-A

Caractéristiques

Breed/Subspecies

BALB/c

Age

Adulte

Gender

Femme

Cellules de sarcome induites par la méthamphétamine | 400284**Morphology** Cellules rondes**Growth properties** Suspension**Données réglementaires****Citation** Sarcome de Meth A (numéro de catalogue Cytion 400284)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_5798**Données biomoléculaires****Tumorigenic** Oui**Manipulation****Culture Medium** RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de NaHCO_3 (numéro d'article Cytion 820700a)**Supplements** Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture**Doubling time** de 28 à 30 heures**Subculturing** Laisser les agrégats cellulaires se déposer au fond du flacon, jeter le milieu surnageant, disperser les cellules en pipettant délicatement, puis les transférer dans de nouveaux flacons. Remettre la suspension cellulaire en suspension dans le flacon et prélever une aliquote représentative pour compter le nombre de cellules par ml. Diluer la suspension cellulaire à 1×10^5 cellules/ml avec du milieu frais, puis la transférer dans de nouveaux flacons.**Seeding density** Commencez les nouvelles cultures en utilisant une concentration de $2 \text{ à } 3 \times 10^6$ cellules/ml. Une fois que les cellules se sont remises du processus de congélation et de décongélation, après 1 à 2 passages, ajustez la densité cellulaire à 1×10^6 cellules/ml lors du fractionnement des cellules.**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine**Post-Thaw Recovery** Environ 53 % du nombre initial de cellules ont été récupérées après la congélation.

Cellules de sarcome induites par la méthamphétamine | 400284

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO₂, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules de sarcome induites par la méthamphétamine | 4 00284

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.