

A673 Клетки | 300454

Обща информация

Description

Клетъчната линия A673 е ценен ресурс в биологичната наука. Тази клетъчна линия, получена от мускулната тъкан на 15-годишна пациентка, диагностицирана със сарком на Евингс, показва ясно изразена полигонална морфология. Първоначално се е смятало, че клетъчната линия е получена от рабдомиосарком (RMS).

Една от забележителните характеристики на клетките A673 е способността им да произвеждат няколко растежни фактора, които притежават онкогенен потенциал. Тези клетки секретират и фактори, инхибиращи растежа, като осигуряват балансирана среда за регулиране на клетъчния растеж. Тези свойства превръщат клетките A673 в отличен модел за изследване на взаимодействието между факторите, стимулиращи и потискащи развитието на тумора. Клетките A673 демонстрират туморогенен потенциал, тъй като могат да предизвикат образуване на тумори при имunosупресирани мишки.

Освен това проучванията са установили хиперметилирани промотори на гени, свързани с рака, в клетъчната линия A673. Тези генетични промени допълнително допринасят за нейната значимост в изследванията на рака, предлагайки платформа за изследване на епигенетичните модификации и тяхното въздействие върху развитието и прогресията на туморите.

Въпреки че клетките A673 често се наричат тумор на Юинг (ET) или сарком (ES), те се свързват и с рабдомиосарком (RMS). Забележително е, че клетъчната линия A673 има сложен кариотип със специфична транслокация, включваща хромозоми 11 и 22. Тази транслокация води до сливане на гените EWS и FLI1, което е характерно генетично събитие при тумора на Юинг.

Organism Човек

Tissue Воне

Disease Сарком на Юинг

Synonyms A-673, RMS 1598, RMS1598

Характеристики

Age 15 години

Gender Жена

Ethnicity Кавказки

Morphology Подобни на фибробласти

Growth properties Монослой, прилепнал

A673 Клетки | 300454

Регулаторни данни

Citation	A673 (каталожен номер 300454 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0080

Биомолекулярни данни

Tumorigenic	Да, при имunosупресирани мишки
Virus susceptibility	Висока чувствителност към човешки аденовируси

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	28 часа
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1 x 10 ⁴ клетки/cm ² ще доведе до конфлуентен монослой в рамките на 8 дни.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично

A673 Клетки | 300454**Post-Thaw Recovery**

След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5×10^4 клетки/ cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^\circ\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^\circ\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^\circ\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

A673 Клетки | 300454

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.