

**A204 Buňky | 300109****Obecné informace****Description**

Buňky A204 jsou lidské epiteliální buňky získané ze svalů roční pacientky s rhabdomyosarkomem. Díky použití v 3D buněčných kulturách a nádorovým vlastnostem poskytují buňky A-204 příležitost ke studiu biologie nádorů a potenciálních terapeutických zásahů. Buňky A-204, odvozené ze svalové tkáně, se velmi podobají vnější vrstvě buněk, které se nacházejí v orgánech a tkáních.

Buněčná linie A204 se vyznačuje agresivním nediferencovaným fenotypem, což z ní činí cenný model pro zkoumání molekulárních mechanismů nádorového bujení a metastazování u sarkomů měkkých tkání.

Přítomnost specifických izoenzymů, včetně AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 a PGM3, v buňkách A-204 umožňuje nahlédnout do jejich metabolických vlastností. Tyto izoenzymy mohou hrát roli v pochopení buněčných procesů, které se podílejí na progresi rakoviny a odpovědi na léčbu.

Tyto buňky vykazují robustní růst in vitro a byly použity ke studiu buněčné proliferace, apoptózy a mechanismů rezistence vůči lékům. Buněčná linie A204 je také důležitá pro hodnocení nových chemoterapeutických látek a pro pochopení interakce mezi buňkami rhabdomyosarkomu a terapeutickými sloučeninami.

Tato buněčná linie slouží jako nezbytný nástroj pro výzkumné pracovníky zabývající se rakovinou, jejichž cílem je vyvinout účinnější léčbu sarkomů a dalších příbuzných malignit.

**Organism** Člověk**Tissue** Svaly**Disease** Rhabdomyosarkom**Synonyms** A-204**Charakteristika****Age** 1 rok**Gender** Ženy**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** A204 (katalogové číslo Cytion 300109)

**A204 Buňky | 300109****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1058**Biomolekulární data****Isoenzymes** PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B**Tumorigenic** U nahých myší. Tvoří malé maligní nádory, které jsou podobné embryonálnímu rhabdomyosarkomu.**Ploidy status** Diploidní a tetraploidní**MSI-status** Stabilní (MSS)**Zpracování****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 26 až 36 hodin**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:6 až 1:10**Seeding density** 0,5 až 1 x 10<sup>4</sup> buněk/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně

## A204 Buňky | 300109

### Post-Thaw Recovery

Po rozmrazení naneste buňky v množství  $2 \times 10^4$  buněk/cm<sup>2</sup> a nechte je zotavit se z procesu zmrazení a přilnout po dobu nejméně 24 až 48 hodin.

### Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

### Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO<sub>2</sub>, zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žádný

## A204 Buňky | 300109

### Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

### Profil STR

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 10,13  
**D13S317:** 11,12  
**D16S539:** 11,12  
**D5S818:** 12  
**D7S820:** 8,1  
**TH01:** 8,9,3  
**TPOX:** 8,9  
**vWA:** 15,17  
**D3S1358:** 14,17  
**D21S11:** 28,3  
**D18S51:** 17,18  
**Penta E:** 7,1  
**Penta D:** 9,12  
**D8S1179:** 13,15  
**FGA:** 21  
**PEZ6:** A172