

A673 Buňky | 300454**Obecné informace****Description**

Buněčná linie A673 je cenným zdrojem v biologické vědě. Tato buněčná linie, odvozená ze svalové tkáně 15leté pacientky s diagnózou Ewingsova sarkomu, vykazuje výraznou polygonální morfolonii. Původně se předpokládalo, že buněčná linie pochází z rabdomyosarkomu (RMS).

Jednou z pozoruhodných vlastností buněk A673 je jejich schopnost produkovat několik růstových faktorů, které mají onkogenní potenciál. Tyto buňky rovněž vylučují faktory inhibující růst, čímž vytvářejí vyvážené prostředí pro regulaci buněčného růstu. Díky těmto vlastnostem jsou buňky A673 vynikajícím modelem pro zkoumání vzájemného působení faktorů podporujících a potlačujících vznik nádoru. Buňky A673 prokázaly tumorigenní potenciál, protože mohou vyvolat tvorbu nádorů u imunosuprimovaných myší.

Studie navíc identifikovaly hypermetylované promotory genů souvisejících s rakovinou v buněčné linii A673. Tyto genetické změny dále přispívají k jejímu významu ve výzkumu rakoviny a nabízejí platformu pro zkoumání epigenetických modifikací a jejich vlivu na vývoj a progresi nádorů.

Buňky A673 jsou často označovány jako Ewingův nádor (ET) nebo sarkom (ES), ale jsou také spojovány s rabdomyosarkomem (RMS). Pozoruhodné je, že buněčná linie A673 má komplexní karyotyp se specifickou translokací zahrnující chromozomy 11 a 22. Tato translokace vede k fúzi genů EWS a FLI1, což je charakteristická genetická událost u Ewingova nádoru.

Organism Člověk**Tissue** Kost**Disease** Ewingův sarkom**Synonyms** A-673, RMS 1598, RMS1598**Charakteristika****Age** 15 let**Gender** Ženy**Ethnicity** Kavkazský**Morphology** Fibroblastům podobné**Growth properties** Monovrstva, adherentní**Regulační údaje**

A673 Buňky | 300454

Citation	A673 (katalogové číslo Cytion 300454)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0080
Depositor	Aaronson

Biomolekulární data

Tumorigenic	Ano, u imunosuprimovaných myší
Virus susceptibility	Vysoká citlivost na lidské adenoviry

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	28 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 1:5 až 1:20
Seeding density	1 x 10 ⁴ buněk/cm ² vytvoří konfluentní monovrstvu během 8 dnů.
Fluid renewal	2 až 3krát týdně

A673 Buňky | 300454

Post-Thaw Recovery

Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.

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 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

A673 Buňky | 300454

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: 11,12
D13S317: 8,13
D16S539: 11
D5S818: 11,12
D7S820: 10,12
TH01: 9.3
TPOX: 8
vWA: 15,18
D3S1358: 14
D21S11: 29,30.2
D18S51: 13,16
D8S1179: 11,13
FGA: 19,20
D2S1338: 16,21
D19S433: 13,14