

A2058 Buňky | 305046

Obecné informace

Description

Buněčná linie A2058 je lidská melanomová buněčná linie odvozená z mozkové metastázy pacienta s maligním melanomem. Tato buněčná linie je široce využívána ve výzkumu rakoviny díky svému vysokému metastatickému potenciálu, což z ní činí důležitý model pro studium progresu melanomu a mechanismů, které jsou základem metastazování. Je známo, že buňky A2058 exprimují receptory nervového růstového faktoru (NGF), které jsou spojeny s jejich agresivními a metastatickými vlastnostmi.

Jednou z klíčových vlastností buněk A2058 je jejich schopnost produkovat transformující růstové faktory (TGF), které podporují růst nezávislý na ukotvení, což je běžný ukazatel transformovaného, rakovinného fenotypu. Tyto TGFs interagují s receptory pro epidermální růstový faktor (EGF), přestože buňky samy o sobě nemají detekovatelné receptory pro EGF. Tato interakce je rozhodující pro umožnění růstu normálních fibroblastů a epiteliálních buněk v měkkém agaru, což je standardní test pro hodnocení transformačního potenciálu nádorových buněk. Schopnost přípravku A2058 podporovat takový růst zdůrazňuje jeho užitečnost ve výzkumu zaměřeném na pochopení a boj proti šíření melanomu.

Organism Člověk

Tissue Kůže

Disease Amelanotický melanom

Metastatic site Lymfatická uzlina

Synonyms A 2058, A-2058

Charakteristika

Age 43 let

Gender Muži

Ethnicity Evropská

Morphology Epitelové

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation A2058 (katalogové číslo Cytion 305046)

A2058 Buňky | 305046

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1059

Biomolekulární data**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	27 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	1:2 až 1:5
--------------------	------------

Fluid renewal	2 až 3krát týdně
----------------------	------------------

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.
----------------------	--

A2058 Buňky | 305046

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

A2058 Buňky | 305046

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,y
CSF1PO: 10,11
D13S317: 13,14
D16S539: 9,13
D5S818: 9,12
D7S820: 11
TH01: 7,9
TPOX: 8
vWA: 14,18
D3S1358: 14,15
D21S11: 29,30.2
D18S51: 13,15
Penta E: 10,13
Penta D: 9,12
D8S1179: 12,13
FGA: 21,24
D6S1043: 11,17
D2S1338: 17,18
D12S391: 22,23
D19S433: 14