

A673 Celler | 300454

Generel information

Description

A673-cellelinjen er en værdifuld ressource i den biologiske videnskab. Denne cellelinje stammer fra muskelvæv fra en 15-årig kvindelig patient med diagnosen Ewings sarkom og udviser en tydelig polygonal morfologi. Oprindeligt troede man, at cellelinjen stammede fra et rhabdomyosarkom (RMS).

En af de bemærkelsesværdige egenskaber ved A673-cellerne er deres evne til at producere flere vækstfaktorer, der har onkogenet potentiale. Disse celler udskiller også væksthæmmende faktorer, hvilket giver et afbalanceret miljø for regulering af cellevækst. Disse egenskaber gør A673-celler til en fremragende model til at undersøge samspillet mellem tumorfremmende og tumorundertrykkende faktorer. A673-celler har vist sig at have et tumorgenetisk potentiale, da de kan fremkalde tumordannelse i immunsupprimerede mus.

Desuden har undersøgelser identificeret hypermethylerede promotorer i kræftrelaterede gener i A673-cellelinjen. Disse genetiske ændringer bidrager yderligere til dens relevans inden for kræftforskning og giver en platform til at udforske epigenetiske modifikationer og deres indvirkning på tumorudvikling og -progression.

Mens A673-celler ofte omtales som Ewing-tumor (ET) eller sarkom (ES), er de også forbundet med rhabdomyosarkom (RMS). Især har A673-cellelinjen en kompleks karyotype med en specifik translokation, der involverer kromosom 11 og 22. Denne translokation fører til fusion af EWS og FLI1-generne, hvilket er en karakteristisk genetisk begivenhed i Ewing-tumor.

Organism

Menneske

Tissue

Knogle

Disease

Ewings sarkom

Synonyms

A-673, RMS 1598, RMS1598

Karakteristika

Age

15 år

Gender

Kvinde

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Fibroblast-lignende

Growth properties

Monolag, klæbende

Regulatoriske data

A673 Celler | 300454**Citation** A673 (Cytion katalognummer 300454)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0080**Biomolekylære data****Tumorigenic** Yees, i immunsupprimerede mus**Virus susceptibility** Meget følsom over for humane adenovirus**Håndtering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 28 timer**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Seeding density** 1×10^4 celler/cm² vil resultere i et konfluent monolag inden for 8 dage.**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Post-Thaw Recovery** Efter optøning skal cellerne udplades med 5×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

A673 Cells | 300454

Freeze medium

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

A673 Celler | 300454

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.