

## A72 Rakud | 602398

## Üldine teave

## Description

A72 rakud on koera fibrosarkoomi rakuliin, mis on saadud koera spontaanselt tekkinud kasvajast. Neid rakke kasutatakse peamiselt veterinaaronkoloogilistes uuringutes, et uurida koerte fibrosarkoomide bioloogiat, käitumist ja ravivastuseid. Nende tähtsus laieneb ka võrdlevatele onkoloogiuuringutele, kus koerte vähkkasvajate kohta saadud teadmisi saab rakendada inimeste vähiuuringutes, kuna teatud koerte ja inimeste kasvajad on bioloogiliselt sarnased.

A72 rakuliinil on kleepuv, fibroblastilaadne morfoloogia ja see on tuntud oma agressiivse kasvu poolest in vitro. Seda on kasutatud vähirakkude bioloogia erinevate aspektide, sealhulgas proliferatsiooni, metastaaside tekke ja kasvajakude ja rakuvälise maatriksi koostimete uurimiseks. Need rakud on eriti väärtuslikud keemiaravimite tõhususe hindamisel ja uute ravistrateegiatega, sealhulgas immunoteraapia ja sihtotstarbeliste ravimeetodite uurimisel.

A72 rakud on ka kasulikud mudeliks kasvajate kasvu ja progresseerumise molekulaarsete, näiteks PI3K/Akt, MAPK ja muude seonduvate radade kaudu toimuva signaaliülekanne uurimiseks. Need aitavad mõista fibrosarkoomi geneetilisi ja molekulaarseid aluseid, mis võivad aidata tuvastada võimalikke biomarkereid diagnoosimiseks ja ravi sihtmärke nii veterinaar- kui ka inimonkoloogias.

**Organism** Koerad

**Tissue** Lihas

**Disease** Kartsinoom

**Synonyms** A 72, A-72

## Omadused

**Breed/Subspecies** Kuldne retriiver

**Age** 8 aastat

**Gender** Naised

**Morphology** Fibroblastilaadsed

**Growth properties** Monokihiline, kleepuv

## Regulatiivsed andmed

## A72 Rakud | 602398

<b>Citation</b>	A72 (Cytioni katalooginumber 602398)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9615
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_3453

## Biomolekulaarsed andmed

<b>Virus susceptibility</b>	Koerte koronaviirused, koerte adenoviirus I, II, koerte herpesviirused, koerte parainfluenzaviirus, koerte parvoviirus koerte katku viirus, koerte minutiirus
-----------------------------	---

## Töötlemine

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
<b>Supplements</b>	Täiendada söötme 10% FBS-ga
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	24 tundi
<b>Subculturing</b>	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
<b>Seeding density</b>	$2 \times 10^4$ rakku/cm <sup>2</sup> annab 3 päeva jooksul tulemuseks konfluentse monokihi.
<b>Fluid renewal</b>	2 kuni 3 korda nädalas
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega $5 \times 10^4$ rakku/cm <sup>2</sup> ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.
<b>Freeze medium</b>	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## A72 Rakud | 602398

### Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

### Flask Coating

Puudub

### Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## A72 Rakud | 602398

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.