

A204 Rakud | 300109

Üldine teave

Description

A204 rakud on inimese epiteelirakud, mis on saadud 1-aastase rabdomüosarkoomiga naissoost patsiendi lihastest. A-204 rakud, millel on rakendused 3D rakukultuuris ja tumorigeensed omadused, annavad võimaluse uurida kasvaja bioloogiat ja võimalikke terapeutilisi sekkumisi. Lihaskoest saadud A-204 rakud sarnanevad väga täpselt organites ja kudedes leiduvate rakkude väliskihiga.

A204 rakuliini iseloomustab agressiivne diferentseerimata fenotüüp, mis muudab selle väärtuslikuks mudeliks pehmete kudede sarkoomide kasvajate tekke ja metastaaside molekulaarsete mehhanismide uurimiseks.

Spetsiifiliste isoensüümide, sealhulgas AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 ja PGM3 olemasolu A-204 rakkudes annab ülevaate nende metaboolsetest omadustest. Need isoensüümid võivad mängida rolli vähi progresseerumise ja ravivastusega seotud rakuprotsesside mõistmisel.

Need rakud näitavad tugevat kasvu in vitro ja neid on kasutatud rakkude proliferatsiooni, apoptoosi ja ravimresistentsuse mehhanismide uurimiseks. A204 rakuliin on oluline ka uute kemoterapeutiliste ainete hindamisel ja rabdomüosarkoomi rakkude ja ravimiühendite vahelise koostoime mõistmisel.

See rakuliin on oluline vahend vähiuurijatele, kes püüavad välja töötada tõhusamaid ravimeetodeid sarkoomide ja muude seotud pahaloomuliste haiguste raviks.

Organism

Inimene

Tissue

Lihas

Disease

Rabdomüosarkoom

Metastatic site

Esmene kasvaja asukoht (lihas)

Applications

Rabdomüosarkoomi uurimine; laste sarkoomi bioloogia; lihaste diferentseerumise uuringud; ravimite suhtes tundlikkus; sarkoomi prekliinilised mudelid

Synonyms

A-204

Omadused

Age

1 aasta

Gender

Naised

Morphology

Epiteelilaadsed

Cell type

Rabdomüosarkoomi rakud

A204 Rakud | 300109

Growth properties	Kinnipeetav
--------------------------	-------------

Regulatiivsed andmed

Citation	A204 (Cytioni katalooginumber 300109)
-----------------	---------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1058
-----------------------------	-----------

GMO Status	Geneetiliselt muundamata; loodusliku tüüpi rabdomüosarkoomi rakuliin
-------------------	--

Biomolekulaarsed andmed

Isoenzymes	PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B
-------------------	--

Tumorigenic	Alasti hiirtel. Moodustab väikeseid pahaloomulisi kasvajaid, mis vastavad embrüonaalsele rabdomüosarkoomile.
--------------------	--

Ploidy status	Diploidne ja tetraploidne
----------------------	---------------------------

MSI-status	Stabiilne (MSS)
-------------------	-----------------

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
--------------------	-----------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	26-36 tundi
----------------------	-------------

A204 Rakud | 300109

Subculturing	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.
Split ratio	1-5
Seeding density	0,5 kuni 1×10^4 rakku/cm ²
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 2×10^4 rakku/cm ² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24-48 tunni jooksul.
Freeze medium	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.

A204 Rakud | 300109**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 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °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 vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x 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°C, 5% 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 °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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

A204 Rakud | 300109

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 ja molekulaaranalüüs

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.