

**A673 Rakud | 300454****Üldine teave****Description**

A673 rakuliin on väärtuslik ressurss bioloogilises teaduses. See rakuliin on saadud 15-aastase naissoost patsiendi lihaskoest, kellel on diagnoositud Ewingsi sarkoom, ja sellel on selge polügooniline morfoloogia. Algselt arvati, et rakuliin on pärit rabdomüosarkoomist (RMS).

A673 rakkude üks tähelepanuväärseid omadusi on nende võime toota mitmeid onkogeense potentsiaaliga kasvufaktoreid. Need rakud eritavad ka kasvu pärssivaid faktoreid, mis tagab tasakaalustatud keskkonna rakkude kasvu reguleerimiseks. Sellised omadused muudavad A673 rakud suurepäraseks mudeliks kasvajat soodustavate ja kasvajat pärssivate faktorite vastastikuse mõju uurimiseks. A673 rakud on näidanud kasvajakasvatamisvõime, kuna nad võivad immuunsupressiooniga hiirtel tekitada kasvajakasvatamist.

Lisaks sellele on uuringutes tuvastatud A673 rakuliinis vähiga seotud geenide hüpermetüülitud promotoreid. Need geneetilised muutused suurendavad veelgi selle tähtsust vähiuuringutes, pakkudes platvormi epigeneetiliste modifikatsioonide ja nende mõju uurimiseks kasvaja arengule ja progresseerumisele.

Kuigi A673 rakke nimetatakse sageli Ewingsi kasvajakasvatamiseks (ET) või sarkoomiks (ES), seostatakse neid ka rabdomüosarkoomiga (RMS). A673 rakuliinil on keerukas karüotüüp, millel on spetsiifiline translokatsioon, mis hõlmab kromosoomi 11 ja 22. See translokatsioon põhjustab EWS ja FLI1 geenide fusiooni, mis on Ewingsi kasvajakasvatamisel geneetiline sündmus.

**Organism** Inimene**Tissue** Bone**Disease** Ewingsi sarkoom**Synonyms** A-673, RMS 1598, RMS1598**Omadused****Age** 15 aastat**Gender** Naised**Ethnicity** Kaukaasia**Morphology** Fibroblastilaadsed**Growth properties** Monokihiline, kleepuv**Regulatiivsed andmed**

**A673 Rakud | 300454****Citation** A673 (Cytioni katalooginumber 300454)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0080**Biomolekulaarsed andmed****Tumorigenic** Jah, immuunsupressiooniga hiirtel**Virus susceptibility** Väga tundlik inimese adenoviiruste suhtes**Töötlemine****Culture Medium** 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)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 28 tundi**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.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup> annab 8 päeva jooksul tulemuseks konfluentse monokihi.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Post-Thaw Recovery** 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.

**A673 Rakud | 300454****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.

**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  $-150^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle  $37^{\circ}\text{C}$  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 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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## A673 Rakud | 300454

### 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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### 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 luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

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