

A72 Kennot | 602398

Yleisiä tietoja

Description

A72-solut ovat koiran fibrosarkoomasolulinja, joka on peräisin koiran spontaanista kasvaimesta. Näitä soluja käytetään pääasiassa eläinlääketieteellisessä onkologisessa tutkimuksessa koirien fibrosarkoomien biologian, käyttäytymisen ja hoitovasteiden tutkimiseen. Niiden merkitys ulottuu myös vertailevaan onkologiatutkimukseen, jossa koiran syövästä saatuja tietoja voidaan soveltaa ihmisen syöpätutkimukseen, koska tiettyjen koiran ja ihmisen kasvainten välillä on biologisia yhtäläisyyksiä.

A72-solulinjalla on tarttuva, fibroblastien kaltainen morfologia, ja se tunnetaan aggressiivisesta kasvustaan in vitro. Sitä on käytetty syöpäsolujen biologian eri näkökohtien, kuten proliferaation, metastaasin ja kasvainsolujen vuorovaikutuksen solunulkoisen matriisin kanssa, tutkimiseen. Nämä solut ovat erityisen arvokkaita arvioitaessa kemoterapeuttisten aineiden tehoa ja tutkittaessa uusia hoitostrategioita, kuten immunoterapiaa ja kohdennettuja hoitoja.

A72-solut tarjoavat myös hyödyllisen mallin kasvainten kasvuun ja etenemiseen liittyvien molekyylireitien, kuten PI3K/Akt-, MAPK- ja muiden vastaavien reittien kautta tapahtuvan signaloinnin, tutkimiseen. Ne auttavat ymmärtämään fibrosarkooman geneettisiä ja molekulaarisia taustatekijöitä, mikä voi auttaa tunnistamaan mahdollisia biomarkkereita diagnoosia varten ja hoitokohteita sekä eläinlääketieteellisessä että ihmisen onkologiassa.

Organism Koira

Tissue Lihas

Disease Syöpä

Synonyms A 72, A-72

Ominaisuudet

Breed/Subspecies Kultainennoutaja

Age 8 vuotta

Gender Nainen

Morphology Fibroblastien kaltaiset

Growth properties Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

A72 Kennot | 602398

Citation A72 (Cytionin luettelonumero 602398)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9615**CellosaurusAccession** CVCL_3453**Biomolekyylitiedot****Virus susceptibility** Koiran koronaviruset, koiran adenovirus I, II, koiran herpesviruset, koiran parainfluenssavirus, koiran parvovirus koiran distemper-virus, koirien minuuttiviruset**Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 tuntia**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Seeding density** 2×10^4 solua/cm² tuottaa konfluenttisen monokerroksen 3 päivän kuluessa.**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Post-Thaw Recovery** Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

A72 Kennot | 602398

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g :n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

A72 Kennot | 602398

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.