

A673 Solut | 300454

Yleisiä tietoja

Description

A673-solulinja on arvokas resurssi biologisessa tieteessä. Tämä solulinja on peräisin 15-vuotiaan naispotilaan lihaskudoksesta, jolla oli Ewingsin sarkooma, ja sillä on selkeä monikulmainen morfologia. Alun perin solulinjan luultiin olevan peräisin rabdomyosarkoomasta (RMS).

Yksi A673-solujen huomattavista ominaisuuksista on niiden kyky tuottaa useita kasvutekijöitä, joilla on onkogeeninen potentiaali. Nämä solut erittävät myös kasvua estäviä tekijöitä, mikä tarjoaa tasapainoisen ympäristön solujen kasvun säätelylle. Tällaiset ominaisuudet tekevät A673-soluista erinomaisen mallin kasvainta edistävien ja kasvainta estävien tekijöiden välisen vuorovaikutuksen tutkimiseen. A673-soluilla on osoitettu olevan kasvainpotentiaalia, sillä ne voivat indusoida kasvainten muodostumista immunosuppressoituneissa hiirissä.

Lisäksi tutkimuksissa on havaittu, että A673-solulinjan syöpään liittyvien geenien promoottorit ovat hypermetyloituneet. Nämä geneettiset muutokset lisäävät entisestään sen merkitystä syöpätutkimuksessa, sillä ne tarjoavat alustan, jonka avulla voidaan tutkia epigeneettisiä muutoksia ja niiden vaikutusta kasvainten kehittymiseen ja etenemiseen.

A673-soluja kutsutaan usein Ewingin kasvaimeksi (ET) tai sarkoomaksi (ES), mutta ne yhdistetään myös rabdomyosarkoomaan (RMS). A673-solulinjalla on monimutkainen karyotyyppi, jossa on kromosomeihin 11 ja 22 liittyvä erityinen translokaatio. Tämä translokaatio johtaa EWS- ja FLI1-geenien fuusioon, mikä on tyypillinen geneettinen tapahtuma Ewingin kasvaimessa.

Organism Ihminen

Tissue Luu

Disease Ewingin sarkooma

Synonyms A-673, RMS 1598, RMS1598

Ominaisuudet

Age 15 vuotta

Gender Nainen

Ethnicity Kaukasialainen

Morphology Fibroblastien kaltaiset

Growth properties Yksikerroksinen, tarttuva

A673 Solut | 300454

Sääntelytiedot

Citation A673 (Cytionin luettelonumero 300454)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0080

Biomolekyyli tiedot

Tumorigenic Kyllä, immunosuppressoituneissa hiirissä

Virus susceptibility Erittäin herkkä ihmisen adenoviruksille

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 28 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 väliainetta.

Seeding density 1×10^4 solua/cm² tuottaa yhtenäisen yksikerroksen 8 päivän kuluessa.

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

A673 Solut | 300454**Post-Thaw Recovery**

Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

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 osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektioipullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektioipullo nopeasti upottamalla se 37 °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 injektioipullo 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 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

A673 Solut | 300454

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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

Pitkäaikaissäilytystä 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

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

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