

A673 Sejtek | 300454

Általános információk

Description

Az A673 sejtvonal értékes erőforrás a biológiai tudományban. Ez a sejtvonal egy 15 éves, Ewings-szarkómával diagnosztizált női beteg izomszövetéből származik, és jellegzetes poligonális morfológiát mutat. Eredetileg úgy gondolták, hogy a sejtvonal egy rhabdomyosarkómából (RMS) származik.

Az A673 sejtek egyik figyelemre méltó jellemzője, hogy számos olyan növekedési faktort képesek termelni, amelyek onkogén potenciállal rendelkeznek. Ezek a sejtek növekedést gátló faktorokat is szekretálnak, kiegyensúlyozott környezetet biztosítva a sejtek növekedésének szabályozásához. Ezek a tulajdonságok az A673 sejteket kiváló modellt teszik a daganatot elősegítő és a daganatot elnyomó faktorok közötti kölcsönhatás vizsgálatára. Az A673 sejtek tumorogén potenciált mutattak, mivel immunszupprimált egerekben képesek tumorképződést indukálni.

Ezenkívül a vizsgálatok hipermetilált promótereket azonosítottak a rákhoz kapcsolódó génekben az A673 sejtvonalon belül. Ezek a genetikai változások tovább növelik jelentőségét a rákkutatásban, mivel platformot kínálnak az epigenetikai módosítások és a tumor kialakulására és progressziójára gyakorolt hatásuk feltárására.

Míg az A673 sejteket gyakran Ewing-tumor (ET) vagy szarkóma (ES) néven emlegetik, a rhabdomyosarkómával (RMS) is kapcsolatba hozzák. Az A673 sejtvonal komplex kariotípussal rendelkezik, a 11. és 22. kromoszómát érintő specifikus transzlokációval. Ez a transzlokáció az EWS és az FLI1 gének fúziójához vezet, ami a Ewing-tumor jellegzetes genetikai eseménye.

Organism Emberi

Tissue Csont

Disease Ewing-szarkóma

Synonyms A-673, RMS 1598, RMS1598

Jellemzők

Age 15 év

Gender Női

Ethnicity Kaukázusi

Morphology Fibroblaszt-szerű

Growth properties Monoréteg, tapadó

A673 Sejtek | 300454

Szabályozási adatok

Citation A673 (Cytion katalógusszám: 300454)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0080

Biomolekuláris adatok

Tumorigenic Igen, immunszupprimált egerekben

Virus susceptibility Rendkívül érzékeny a humán adenovírusokra

A kezelése

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 28 óra

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density 1×10^4 sejt/cm² 8 napon belül konfluens monoréteget eredményez.

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

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

Felolvasztás után helyezze a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.

**Freeze
medium**

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

A673 Sejtek | 300454

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.