

A673 ląstelės | 300454**Bendra informacija****Description**

A673 ląstelių linija yra vertingas biologijos mokslo šaltinis. Šiai ląstelių linijai, gautai iš penkiolikmetės pacientės, kuriai diagnozuota Ewings sarkoma, raumenų audinio, būdinga aiški daugiakampė morfologija. Iš pradžių buvo manoma, kad ši ląstelių linija gauta iš raudomiosarkomos (RMS).

Viena iš ypatingų A673 ląstelių savybių yra jų gebėjimas gaminti kelis augimo veiksnius, turinčius onkogeninį potencialą. Šios ląstelės taip pat išskiria augimą slopinančius veiksnius, taip užtikrindamos subalansuotą ląstelių augimo reguliavimo aplinką. Dėl tokių savybių A673 ląstelės yra puikus modelis naviką skatinančių ir slopinančių veiksnių sąveikai tirti. A673 ląstelės pasižymi navikiniu potencialu, nes jos gali sukelti naviko formavimąsi imunosupresinėse pelėse.

Be to, atlikus tyrimus nustatyta, kad A673 ląstelių linijoje yra hipermetilinti su vėžiu susijusių genų promotoriai. Šie genetiniai pakitimai dar labiau padidina jos svarbą vėžio tyrimams, nes suteikia galimybę tirti epigenetines modifikacijas ir jų poveikį naviko vystymuisi ir progresavimui.

Nors A673 ląstelės dažnai vadinamos Ewingo naviku (ET) arba sarkoma (ES), jos taip pat siejamos su raudomiosarkoma (RMS). Pažymėtina, kad A673 ląstelių linija turi sudėtingą kariotipą su specifine translokacija, apimančia 11 ir 22 chromosomas. Ši translokacija lemia EWS ir FLI1 genų susiliejimą, kuris yra būdingas Ewingo navikui.

Organism Žmogus**Tissue** Kaulas**Disease** Ewingo sarkoma**Synonyms** A-673, RMS 1598, RMS1598**Charakteristikos****Age** 15 metų**Gender** Moteris**Ethnicity** Kaukaziečių**Morphology** | fibroblastus panašus**Growth properties** Viensluoksnis, prigludęs**Reguliavimo duomenys**

A673 ląstelės | 300454**Citation** A673 (Cytion katalogo numeris 300454)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0080**Biomolekuliniai duomenys****Tumorigenic** Taip, su imunosupresinėmis pelėmis**Virus susceptibility** Labai jautrus žmogaus adenovirusams**Tvarkymas****Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 28 valandos**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Seeding density** 1×10^4 ląstelės/cm² per 8 dienas suformuos konfluentinį monosluoksni.**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5×10^4 ląstelių/cm² tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

A673 ląstelės | 300454

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

A673 ląstelės | 300454

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.