

A204 Šūnas | 300109

Vispārīga informācija

Description

A204 šūnas ir cilvēka epitēlija šūnas, kas iegūtas no 1 gadu vecas sievietes, kura bija saslimusi ar rabdomiosarkomu, muskuļiem. A-204 šūnas, ko var izmantot 3D šūnu kultūrā un kurām piemīt audzēja īpašības, sniedz iespēju pētīt audzēju bioloģiju un iespējamās terapeitiskās iejaukšanās iespējas. A-204 šūnas, kas iegūtas no muskuļu audiem, ir ļoti līdzīgas orgānu un audu šūnu ārējam slānim.

A204 šūnu līnijai ir raksturīgs agresīvs nediferencēts fenotips, tāpēc tā ir vērtīgs modelis mīksto audu sarkomu audzēju rašanās un metastāžu molekulāro mehānismu izpētei.

Konkrētu izoenzīmu, tostarp AK-1, ES-D, G6PD, GLO-I, Me-2, PGM1 un PGM3, klātbūtne A-204 šūnās sniedz ieskatu to metaboliskajās īpašībās. Šiem izoenzīmiem var būt nozīme, lai izprastu vēža progresēšanu un atbildes reakciju uz ārstēšanu veicinošos šūnu procesus.

Šīm šūnām piemīt spēcīga augšana in vitro, un tās ir izmantotas šūnu proliferācijas, apoptozes un rezistences pret zālēm mehānismu izpētei. A204 šūnu līnija ir noderīga arī jaunu ķīmijterapeitisko līdzekļu novērtēšanā un rabdomiosarkomu šūnu un terapeitisko savienojumu mijiedarbības izpratnē.

Šī šūnu līnija kalpo kā būtisks rīks vēža pētniekiem, kuru mērķis ir izstrādāt efektīvāku ārstēšanu sarkomu un citu radniecīgu ļaundabīgu audzēju gadījumā.

Organism Cilvēks

Tissue Muskuļi

Disease Rabdomiosarkoma

Metastatic site Primary tumor site (muscle)

Applications Rhabdomyosarcoma research; pediatric sarcoma biology; muscle differentiation studies; drug sensitivity; preclinical sarcoma models

Synonyms A-204

Raksturojums

Age 1 gads

Gender Sievietes

Morphology Epitēlijveidīgs

Cell type Rhabdomyosarcoma cells

A204 Šūnas | 300109

Growth properties	Adherent
--------------------------	----------

Normatīvie dati

Citation	A204 (Cytion kataloga numurs 300109)
-----------------	--------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1058
-----------------------------	-----------

GMO Status	No genetic modification; wildtype rhabdomyosarcoma cell line
-------------------	--

Biomolekulārie dati

Isoenzymes	PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B
-------------------	--

Tumorigenic	Plikām pelēm. Veido nelielus ļaundabīgus audzējus, kas atbilst embrionālajai rabdomyosarkomai.
--------------------	--

Ploidy status	Diploīdi un tetraploīdi
----------------------	-------------------------

MSI-status	Stabils (MSS)
-------------------	---------------

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
--------------------	-------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	26 līdz 36 stundas
----------------------	--------------------

A204 Šūnas | 300109

Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Split ratio	1 to 5
Seeding density	0,5 līdz 1×10^4 šūnas/cm ²
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas 2×10^4 šūnas/cm ² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 līdz 48 stundas.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

A204 Šūnas | 300109**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

A204 Šūnas | 300109

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.