

## A673 Šūnas | 300454

## Vispārīga informācija

## Description

A673 šūnu līnija ir vērtīgs bioloģijas zinātnes resurss. Šai šūnu līnijai, kas iegūta no 15 gadus vecas pacientes, kurai diagnosticēta Evinga sarkoma, muskuļu audiem, piemīt izteikta poligonāla morfoloģija. Sākotnēji tika uzskatīts, ka šūnu līnija iegūta no rabdomiosarkomas (RMS).

Viena no A673 šūnu ievērojamām īpašībām ir to spēja ražot vairākus augšanas faktorus, kam piemīt onkogēns potenciāls. Šīs šūnas izdala arī augšanu kavējošus faktorus, nodrošinot līdzsvarotu vidi šūnu augšanas regulēšanai. Šādas īpašības padara A673 šūnas par lielisku modeli, lai pētītu audzēju veicinošo un audzēju nomācošo faktoru mijiedarbību. A673 šūnām ir pierādīts audzēja potenciāls, jo tās var izraisīt audzēja veidošanos imūnsupresētām pelēm.

Turklāt pētījumos ir atklāti hipermetilēti ar vēzi saistīto gēnu promotori A673 šūnu līnijā. Šīs ģenētiskās izmaiņas vēl vairāk palielina tās nozīmi vēža pētniecībā, piedāvājot platformu, lai izpētītu epigenētiskās modifikācijas un to ietekmi uz audzēju attīstību un progresēšanu.

Lai gan A673 šūnas bieži dēvē par Jvinga audzēju (ET) vai sarkomu (ES), tās tiek saistītas arī ar rabdomiosarkomu (RMS). A673 šūnu līnijai ir sarežģīts kariotips ar īpašu translokāciju, kas ietver 11. un 22. hromosomu. Šīs translokācijas rezultātā notiek EWS un FLI1 gēnu saplūšana, kas ir raksturīgs Evinga audzēja ģenētisks notikums.

**Organism** Cilvēks

**Tissue** Bone

**Disease** Jvinga sarkoma

**Synonyms** A-673, RMS 1598, RMS1598

## Raksturojums

**Age** 15 gadi

**Gender** Sievietes

**Ethnicity** Kaukāzietis

**Morphology** Fibroblastiem līdzīgs

**Growth properties** Vienslāņa, adhēzija

## Normatīvie dati

## A673 Šūnas | 300454

**Citation** A673 (Cytion kataloga numurs 300454)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0080

**Biomolekulārie dati**

**Tumorigenic** Jā, imunosupresētām pelēm

**Virus susceptibility** Augsta jutība pret cilvēka adenovīrusiem

**Darbs ar**

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

**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 28 stundas

**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.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup> izveidos konfluentu monoslāni 8 dienu laikā.

**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izklaidējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu  $5 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup> un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

**A673 Šūnas | 300454****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.

**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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to  $37^{\circ}\text{C}$  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  $300 \times g$  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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## A673 Šūnas | 300454

### 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.