

A2058 Cellen | 305046

Algemene informatie

Description

De A2058 cellijn is een humane melanoom cellijn afkomstig van een hersenmetastase van een patiënt met kwaadaardig melanoom. Deze cellijn wordt veel gebruikt in kankeronderzoek vanwege het hoge metastase-potentieel, waardoor het een belangrijk model is voor het bestuderen van de progressie van melanoom en de mechanismen die ten grondslag liggen aan metastase. Van A2058-cellen is bekend dat ze zenuwgroefactor (NGF)-receptoren tot expressie brengen, wat verband houdt met hun agressieve en metastatische eigenschappen.

Een van de belangrijkste kenmerken van A2058-cellen is hun vermogen om transformerende groeifactoren (TGF's) te produceren die ankerplaatsonafhankelijke groei bevorderen, een veel voorkomende indicator van het getransformeerde, kankerachtige fenotype. Deze TGFs interageren met epidermale groeifactor (EGF) receptoren, ondanks dat de cellen zelf geen detecteerbare EGF receptoren hebben. Deze interactie is cruciaal voor het mogelijk maken van de groei van normale fibroblasten en epitheelcellen in soft agar, een standaardtest voor het evalueren van het transformatiepotentieel van kankercellen. Het vermogen van A2058 om dergelijke groei te stimuleren benadrukt het nut ervan in onderzoek dat zich richt op het begrijpen en bestrijden van de verspreiding van melanoom.

Organism

Mens

Tissue

Huid

Disease

Amelanotisch melanoom

Metastatic site

Lymfeklier

Synonyms

A 2058, A-2058

Kenmerken

Age

43 jaar

Gender

Mannelijk

Ethnicity

Europese

Morphology

Epitheel

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

A2058 Cellen | 305046

Citation A2058 (Cytion catalogusnummer 305046)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1059

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 27 uur

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio 1:2 tot 1:5

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

A2058 Cellen | 305046

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

A2058 Cellen | 305046

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 10,11
D13S317: 13,14
D16S539: 9,13
D5S818: 9,12
D7S820: 11
TH01: 7,9
TPOX: 8
vWA: 14,18
D3S1358: 14,15
D21S11: 29,30.2
D18S51: 13,15
Penta E: 10,13
Penta D: 9,12
D8S1179: 12,13
FGA: 21,24
D6S1043: 11,17
D2S1338: 17,18
D12S391: 22,23
D19S433: 14