

A673 Celler | 300454**Generell informasjon****Description**

A673-cellelinjen er en verdifull ressurs innen biologisk forskning. Cellelinjen stammer fra muskelvev fra en 15 år gammel kvinnelig pasient som ble diagnostisert med Ewings sarkom, og den har en utpreget polygonal morfologi. Opprinnelig trodde man at cellelinjen stammet fra et rabdomyosarkom (RMS).

Et av de bemerkelsesverdige kjennetegnene ved A673-cellene er deres evne til å produsere flere vekstfaktorer som har onkogen potensial. Disse cellene skiller også ut veksthemmende faktorer, noe som gir et balansert miljø for regulering av cellevekst. Disse egenskapene gjør A673-celler til en utmerket modell for å undersøke samspillet mellom tumorfremmende og tumorsupprimerende faktorer. A673-celler har vist seg å ha et tumorigent potensial, ettersom de kan indusere tumordannelse i immunsupprimerte mus.

Studier har dessuten identifisert hypermetylerte promotorer i kreftrelaterte gener i A673-cellelinjen. Disse genetiske endringene bidrar ytterligere til cellelinjens relevans i kreftforskningen, og gir en plattform for å utforske epigenetiske modifikasjoner og deres innvirkning på utvikling og progresjon av svulster.

A673-celler omtales ofte som Ewing-svulst (ET) eller sarkom (ES), men de forbindes også med rabdomyosarkom (RMS). A673-cellelinjen har en kompleks karyotype med en spesifikk translokasjon som involverer kromosom 11 og 22. Denne translokasjonen fører til fusjon av AWS- og FLI1-genene, noe som er en karakteristisk genetisk hendelse ved Ewing-tumor.

Organism

Menneskelig

Tissue

Bein

Disease

Ewings sarkom

Synonyms

A-673, RMS 1598, RMS1598

Kjennetegn**Age**

15 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

Fibroblastlignende

Growth properties

Monolag, vedheftende

Regulatoriske data

A673 Celler | 300454

Citation	A673 (Cytion-katalognummer 300454)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0080
Depositor	Aaronson

Biomolekylære data

Tumorigenic	Ja, i immunsupprimerte mus
Virus susceptibility	Svært følsom overfor humane adenovirus

Håndtering

Culture Medium	DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO ₃ , m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	28 timer
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:5 til 1:20 anbefales
Seeding density	1 x 10 ⁴ celler/cm ² vil resultere i et sammenvokst monolag innen 8 dager.
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke

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

Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

A673 Celler | 300454

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11,12
D13S317: 8,13
D16S539: 11
D5S818: 11,12
D7S820: 10,12
TH01: 9.3
TPOX: 8
vWA: 15,18
D3S1358: 14
D21S11: 29,30.2
D18S51: 13,16
D8S1179: 11,13
FGA: 19,20
D2S1338: 16,21
D19S433: 13,14