

A72 Komórki | 602398**Informacje ogólne****Description**

Komórki A72 to linia komórek włókniakomięsaka psów pochodząca ze spontanicznie występującego guza u psa. Komórki te są wykorzystywane głównie w weterynaryjnych badaniach onkologicznych do badania biologii, zachowania i odpowiedzi na leczenie włókniakomięsaków psów. Ich znaczenie rozciąga się na porównawcze badania onkologiczne, w których spostrzeżenia uzyskane z nowotworów psów można zastosować w badaniach nad nowotworami u ludzi ze względu na podobieństwa biologiczne między niektórymi nowotworami psów i ludzi.

Linia komórkowa A72 wykazuje przylegającą morfologię podobną do fibroblastów i jest znana z agresywnego wzrostu in vitro. Została ona wykorzystana do zbadania różnych aspektów biologii komórek nowotworowych, w tym proliferacji, przerzutów i interakcji komórek nowotworowych z macierzą zewnątrzkomórkową. Komórki te są szczególnie cenne w ocenie skuteczności środków chemioterapeutycznych i badaniu nowych strategii terapeutycznych, w tym immunoterapii i terapii celowanych.

Komórki A72 stanowią również przydatny model do badania szlaków molekularnych zaangażowanych we wzrost i progresję nowotworu, takich jak sygnalizacja poprzez PI3K/Akt, MAPK i inne powiązane szlaki. Odgrywają one kluczową rolę w zrozumieniu genetycznych i molekularnych podstaw włókniakomięsaka, co może pomóc w identyfikacji potencjalnych biomarkerów do diagnozy i celów leczenia zarówno w onkologii weterynaryjnej, jak i ludzkiej.

Organism Pies**Tissue** Mięśnie**Disease** Rak**Synonyms** A 72, A-72**Charakterystyka****Breed/Subspecies** Golden Retriever**Age** 8 lat**Gender** Kobieta**Morphology** Podobny do fibroblastów**Growth properties** Monowarstwa, przylegająca**Dane regulacyjne**

A72 Komórki | 602398**Citation** A72 (numer katalogowy Cytion 602398)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9615**CellosaurusAccession** CVCL_3453**Dane biomolekularne****Virus susceptibility** Koronawirusy psów, adenowirusy psów I, II, herpeswirusy psów, parainflenzawirusy psów, parwowirusy psów, wirus nosówki psów, drobny wirus psów**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 godziny**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:4**Seeding density** 2×10^4 komórek/cm² spowoduje powstanie zlewającej się monowarstwy w ciągu 3 dni.**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

A72 Komórki | 602398

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

A72 Komórki | 602398

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.