

A673 Komórki | 300454**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa A673 jest cennym zasobem w naukach biologicznych. Pochodząca z tkanki mięśniowej 15-letniej pacjentki ze zdiagnozowanym mięsakiem Ewinga, ta linia komórkowa wykazuje wyraźną wielokątną morfologię. Pierwotnie uważano, że linia komórkowa pochodzi z mięsaka prążkowanokomórkowego (RMS).

Jedną z niezwykłych cech komórek A673 jest ich zdolność do wytwarzania kilku czynników wzrostu, które posiadają potencjał onkogenny. Komórki te wydzielają również czynniki hamujące wzrost, zapewniając zrównoważone środowisko do regulacji wzrostu komórkowego. Takie właściwości sprawiają, że komórki A673 są doskonałym modelem do badania interakcji między czynnikami promującymi i hamującymi rozwój nowotworu. Komórki A673 wykazały potencjał nowotworowy, ponieważ mogą indukować powstawanie guzów u myszy poddanych immunosupresji.

Co więcej, w badaniach zidentyfikowano hipermetylowane promotory genów związanych z rakiem w linii komórkowej A673. Te zmiany genetyczne dodatkowo przyczyniają się do jej znaczenia w badaniach nad rakiem, oferując platformę do badania modyfikacji epigenetycznych i ich wpływu na rozwój i progresję nowotworu.

Podczas gdy komórki A673 są często określane jako guz Ewinga (ET) lub mięsak (ES), są one również związane z mięsakiem prążkowanokomórkowym (RMS). Warto zauważyć, że linia komórkowa A673 ma złożony kariotyp ze specyficzną translokacją obejmującą chromosomy 11 i 22. Ta translokacja prowadzi do fuzji genów EWS i FLI1, co jest charakterystycznym zdarzeniem genetycznym w guzie Ewinga.

Organism Człowiek**Tissue** Kość**Disease** Mięsak Ewinga**Synonyms** A-673, RMS 1598, RMS1598**Charakterystyka****Age** 15 lat**Gender** Kobieta**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Podobny do fibroblastów**Growth properties** Monowarstwa, przylegająca

A673 Komórki | 300454**Dane regulacyjne**

Citation	A673 (numer katalogowy Cytion 300454)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0080
Depositor	Aaronson

Dane biomolekularne

Tumorigenic	Tak, u myszy z obniżoną odpornością
Virus susceptibility	Wysoka wrażliwość na ludzkie adenowirusy

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	28 godzin
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	Zalecane są proporcje od 1:5 do 1:20
Seeding density	1 x 10 ⁴ komórek/cm ² spowoduje powstanie zlewającej się monowarstwy w ciągu 8 dni.

A673 Komórki | 300454**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 przyłączyć do podłoża.**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 otwórz zdezynfekowaną fiolkę i przenieś zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x 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 zawieszonych, 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% CO₂, nawilżona atmosfera.**Flask Coating** Brak

A673 Komórki | 300454

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.

Profil STR

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