

Komórki A2058 | 305046

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa A2058 to ludzka linia komórkowa czerniaka pochodząca z przerzutów do mózgu pacjenta z czerniakiem złośliwym. Ta linia komórkowa jest szeroko stosowana w badaniach nad rakiem ze względu na jej wysoki potencjał przerzutowy, co czyni ją ważnym modelem do badania progresji czerniaka i mechanizmów leżących u podstaw przerzutów. Wiadomo, że komórki A2058 wyrażają receptory czynnika wzrostu nerwów (NGF), które są powiązane z ich agresywnymi i przerzutowymi właściwościami.

Jedną z kluczowych cech komórek A2058 jest ich zdolność do wytwarzania transformujących czynników wzrostu (TGF), które promują wzrost niezależny od zakotwiczenia, powszechny wskaźnik transformowanego, nowotworowego fenotypu. Te TGF oddziałują z receptorami naskórkowego czynnika wzrostu (EGF), mimo że same komórki nie posiadają wykrywalnych receptorów EGF. Interakcja ta ma kluczowe znaczenie dla umożliwienia wzrostu normalnych fibroblastów i komórek nabłonkowych w miękkim agarze, standardowym teście do oceny potencjału transformacji komórek nowotworowych. Zdolność A2058 do napędzania takiego wzrostu podkreśla jego użyteczność w badaniach koncentrujących się na zrozumieniu i zwalczaniu rozprzestrzeniania się czerniaka.

Organism

Człowiek

Tissue

Skóra

Disease

Czerniak amelanotyczny

Metastatic site

Węzeł chłonny

Synonyms

A 2058, A-2058

Charakterystyka

Age

43 lata

Gender

Mężczyzna

Ethnicity

Europejski

Morphology

Nabłonek

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Komórki A2058 | 305046

Citation A2058 (numer katalogowy Cytion 305046)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1059

Dane biomolekularne

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** 27 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** 1:2 do 1:5**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**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.

Komórki A2058 | 305046

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 probówki 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 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% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki A2058 | 305046

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 wykluczane 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,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