

Células A673 | 300454**Informações gerais****Description**

A linha de células A673 é um recurso valioso para as ciências biológicas. Derivada do tecido muscular de uma doente de 15 anos diagnosticada com Sarcoma de Ewings, esta linha celular apresenta uma morfologia poligonal distinta. Inicialmente, pensava-se que a linha celular era derivada de um rabdmiossarcoma (RMS).

Uma das caraterísticas notáveis das células A673 é a sua capacidade de produzir vários factores de crescimento com potencial oncogénico. Estas células também segregam factores inibidores do crescimento, proporcionando um ambiente equilibrado para a regulação do crescimento celular. Estas propriedades fazem das células A673 um excelente modelo para investigar a interação entre factores promotores e supressores de tumores. As células A673 demonstraram potencial tumorigénico, uma vez que podem induzir a formação de tumores em ratinhos imunossuprimidos.

Além disso, estudos identificaram promotores hipermetilados em genes relacionados com o cancro na linha celular A673. Estas alterações genéticas contribuem ainda mais para a sua relevância na investigação do cancro, oferecendo uma plataforma para explorar as modificações epigenéticas e o seu impacto no desenvolvimento e progressão dos tumores.

Embora as células A673 sejam frequentemente designadas por tumor de Ewing (ET) ou sarcoma (ES), estão também associadas ao rabdmiossarcoma (RMS). Em particular, a linha celular A673 apresenta um cariótipo complexo com uma translocação específica envolvendo os cromossomas 11 e 22. Esta translocação leva à fusão dos genes EWS e FLI1, que é um evento genético caraterístico do Tumor de Ewing.

Organism Humano**Tissue** Osso**Disease** Sarcoma de Ewing**Synonyms** A-673, RMS 1598, RMS1598**Caraterísticas****Age** 15 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Caucasiano**Morphology** Tipo fibroblastos**Growth properties** Monocamada, aderente

Células A673 | 300454**Dados regulamentares**

Citation	A673 (número de catálogo Cytion 300454)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0080

Dados biomoleculares

Tumorigenic	Sim, em ratinhos imunossuprimidos
Virus susceptibility	Altamente sensível aos adenovírus humanos

Manuseamento

Culture Medium	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	28 horas
Subculturing	Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.
Seeding density	1 x 10 ⁴ células/cm ² resultará numa monocamada confluenta em 8 dias.
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana

Células A673 | 300454

Post-Thaw Recovery

Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Células A673 | 300454

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.