

A72 Bunky | 602398

Všeobecné informácie

Description

Bunky A72 sú bunkovou líniou psieho fibrosarkómu získanou zo spontánne sa vyskytujúceho nádoru u psa. Tieto bunky sa používajú najmä vo veterinárnom onkologickom výskume na štúdium biológie, správania a reakcií na liečbu fibrosarkómov psov. Ich význam sa rozširuje aj na porovnávacie onkologické štúdie, kde sa poznatky získané z rakoviny psov môžu uplatniť pri výskume rakoviny ľudí vzhľadom na biologickú podobnosť medzi niektorými nádormi psov a ľudí.

Bunková línia A72 vykazuje adherentnú morfológiu podobnú fibroblastom a je známa svojím agresívnym rastom in vitro. Využíva sa na skúmanie rôznych aspektov biológie nádorových buniek vrátane proliferácie, metastázovania a interakcií nádorových buniek s extracelulárnou matrix. Tieto bunky sú obzvlášť cenné na hodnotenie účinnosti chemoterapeutických látok a skúmanie nových terapeutických stratégií vrátane imunoterapie a cielej liečby.

Bunky A72 sú tiež užitočným modelom na štúdium molekulárnych dráh, ktoré sa podieľajú na raste a progresii nádorov, ako napríklad signalizácia prostredníctvom PI3K/Akt, MAPK a iných súvisiacich dráh. Pomáhajú pochopiť genetické a molekulárne základy fibrosarkómu, čo môže pomôcť identifikovať potenciálne biomarkery na diagnostiku a ciele liečby vo veterinárnej aj ľudskej onkológii.

Organism Psy

Tissue Svaly

Disease Karcinóm

Synonyms A 72, A-72

Charakteristika

Breed/Subspecies Zlatý retriever

Age 8 rokov

Gender Ženy

Morphology Fibroblastom podobné

Growth properties Monovrstva, priliehajúca

Regulačné údaje

A72 Bunky | 602398**Citation** A72 (katalógové číslo Cytion 602398)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9615**CellosaurusAccession** CVCL_3453**Biomolekulárne údaje****Virus susceptibility** Psí koronavírusy, psie adenovírusy I, II, psie herpes vírusy, psie parainfluenzavírusy, psie parvovírusy vírus psinky, minúťový vírus psov**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 24 hodín**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Seeding density** 2×10^4 buniek/cm² vytvorí do 3 dní konfluentnú monovrstvu.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

A72 Bunky | 602398

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

A72 Bunky | 602398

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.