

A673 Bunky | 300454**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia A673 je cenným zdrojom v biologickej vede. Táto bunková línia, odvodená zo svalového tkaniva 15-ročnej pacientky s diagnózou Ewingsov sarkóm, vykazuje výraznú polygonálnu morfológiu. Pôvodne sa predpokladalo, že táto bunková línia pochádza z rabdomyosarkómu (RMS).

Jednou z pozoruhodných vlastností buniek A673 je ich schopnosť produkovať niekoľko rastových faktorov, ktoré majú onkogénny potenciál. Tieto bunky vylučujú aj faktory inhibujúce rast, čím poskytujú vyvážené prostredie pre reguláciu bunkového rastu. Vďaka týmto vlastnostiam sú bunky A673 vynikajúcim modelom na skúmanie vzájomného pôsobenia faktorov podporujúcich a potláčajúcich vznik nádorov. Bunky A673 preukázali nádorový potenciál, pretože môžu indukovať tvorbu nádorov u imunosuprimovaných myší.

Okrem toho štúdie identifikovali hypermetylované promótory v génoch súvisiacich s rakovinou v bunkovej línii A673. Tieto genetické zmeny ďalej prispievajú k jej významu vo výskume rakoviny a ponúkajú platformu na skúmanie epigenetických modifikácií a ich vplyvu na vývoj a progresiu nádorov.

Hoci sa bunky A673 často označujú ako Ewingov nádor (ET) alebo sarkóm (ES), spájajú sa aj s rabdomyosarkómom (RMS). Bunková línia A673 má komplexný karyotyp so špecifickou translokáciou zahŕňajúcou chromozómy 11 a 22. Táto translokácia vedie k fúzii génov EWS a FLL1, čo je charakteristická genetická udalosť pri Ewingovom nádore.

Organism Ľudské**Tissue** Kosti**Disease** Ewingov sarkóm**Synonyms** A-673, RMS 1598, RMS1598**Charakteristika****Age** 15 rokov**Gender** Ženy**Ethnicity** Kaukazský**Morphology** Fibroblastom podobné**Growth properties** Monovrstva, priliehajúca**Regulačné údaje**

A673 Bunky | 300454**Citation** A673 (katalógové číslo Cytion 300454)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0080**Biomolekulárne údaje****Tumorigenic** Áno, u imunosuprimovaných myší**Virus susceptibility** Vysoká citlivosť na ľudské adenovírusy**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** 28 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** 1×10^4 buniek/cm² bude mať za následok konfluentnú monovrstvu do 8 dní.**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.

A673 Bunky | 300454

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 °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 °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 x 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 °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 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

A673 Bunky | 300454

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.