

**A673 Celice | 300454****Splošne informacije****Description**

Celična linija A673 je dragocen vir v biološki znanosti. Ta celična linija, pridobljena iz mišičnega tkiva 15-letne bolnice z diagnozo sarkoma Ewings, ima izrazito poligonalno morfologijo. Prvotno so domnevali, da celična linija izhaja iz rabdomiosarkoma (RMS).

Ena od izjemnih značilnosti celic A673 je njihova sposobnost proizvodnje več rastnih dejavnikov, ki imajo onkogeni potencial. Te celice izločajo tudi dejavnike, ki zavirajo rast, kar zagotavlja uravnano okolje za uravnavanje celične rasti. Zaradi teh lastnosti so celice A673 odličen model za preučevanje medsebojnega vpliva med dejavniki, ki spodbujajo in zavirajo nastanek tumorja. Celice A673 so pokazale tumorigen potencial, saj lahko povzročijo nastanek tumorjev pri imunosuprimiranih miših.

Poleg tega so v študijah ugotovili hipermetilirane promotornje genov, povezanih z rakom, v celični liniji A673. Te genetske spremembe dodatno prispevajo k njenemu pomenu pri raziskavah raka, saj ponujajo platformo za raziskovanje epigenetskih sprememb in njihovega vpliva na razvoj in napredovanje tumorjev.

Čeprav se celice A673 pogosto imenujejo Ewingov tumor (ET) ali sarkom (ES), jih povezujejo tudi z rabdomiosarkomom (RMS). Celica linije A673 ima kompleksen kariotip s posebno translokacijo, ki vključuje kromosoma 11 in 22. Ta translokacija povzroči združitev genov EWS in FLI1, kar je značilen genetski dogodek pri Ewingovem tumorju.

**Organism**      Človek**Tissue**            Kosti**Disease**            Ewingov sarkom**Synonyms**        A-673, RMS 1598, RMS1598**Značilnosti****Age**                15 let**Gender**            Ženske**Ethnicity**         Kavkaški**Morphology**     Fibroblastom podobni**Growth properties**    Enoslojni, adherentni**Regulativni podatki**

**A673 Celice | 300454****Citation** A673 (katalogška številka Cytion 300454)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0080**Biomolekularni podatki****Tumorigenic** Da, pri imunosuprimiranih miših**Virus susceptibility** Visoka občutljivost na človeške adenoviruse**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 28 ur**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  celic/cm<sup>2</sup> bo v 8 dneh povzročilo konfluentno monosloj.**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Post-Thaw Recovery** Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti  $5 \times 10^4$  cel<sup>ic</sup>/cm<sup>2</sup> in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.

## A673 Celice | 300454

### Freeze medium

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenga s kriom.

### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

### Flask Coating

Nič

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

## A673 Celice | 300454

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Shranjevanje pri  $-80^{\circ}\text{C}$  je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.