

Células A673 | 300454

Informações gerais

Description

A linhagem celular A673 é um recurso valioso na ciência biológica. Derivada do tecido muscular de uma paciente de 15 anos diagnosticada com sarcoma de Ewing, essa linhagem celular apresenta uma morfologia poligonal distinta. Inicialmente, acreditava-se que a linhagem celular fosse derivada de um rabdomiossarcoma (RMS).

Uma das características notáveis das células A673 é sua capacidade de produzir diversos fatores de crescimento que possuem potencial oncogênico. Essas células também secretam fatores inibidores de crescimento, proporcionando um ambiente equilibrado para a regulação do crescimento celular. Tais propriedades tornam as células A673 um excelente modelo para investigar a interação entre fatores promotores e supressores de tumores. As células A673 demonstraram potencial tumorigênico, pois podem induzir a formação de tumores em camundongos imunossuprimidos.

Além disso, estudos identificaram promotores hipermetilados em genes relacionados ao câncer na linhagem celular A673. Essas alterações genéticas contribuem ainda mais para sua relevância na pesquisa do câncer, oferecendo uma plataforma para explorar modificações epigenéticas e seu impacto no desenvolvimento e na progressão do tumor.

Embora as células A673 sejam frequentemente referidas como tumor de Ewing (ET) ou sarcoma de Ewing (ES), elas também estão associadas ao rabdomiossarcoma (RMS). Notavelmente, a linhagem celular A673 apresenta um cariótipo complexo com uma translocação específica envolvendo os cromossomos 11 e 22. Essa translocação leva à fusão dos genes EWS e FLI1, o que é um evento genético característico do tumor de Ewing.

Organism

Humano

Tissue

Osso

Disease

Sarcoma de Ewing

Synonyms

A-673, RMS 1598, RMS1598

Características

Age

15 anos

Gender

Mulher

Ethnicity

caucasiano

Morphology

Semelhante a fibroblastos

Growth properties

Monocamada, aderente

Células A673 | 300454**Dados regulatórios**

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

Dados biomoleculares

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

Manuseio

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)
Supplements	Adicione 10% de FBS ao meio
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	28 horas
Subculturing	Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.
Seeding density	1 x 10 ⁴ células/cm ² resultará em uma monocamada confluenta em até 8 dias.
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana

Células A673 | 300454**Post-Thaw Recovery**

Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se adiram por pelo menos 24 horas.

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Células A673 | 300454

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.