

Клетки A427 | 300111

Обща информация

Description

Клетките A427 произхождат от белодробна тъкан, по-специално от карцином, имат епителна морфология и растат прилепващо. Времето за удвояване на клетките A427 е приблизително 28 часа в среда RPMI 1640, допълнена с 10% фетален говежди серум (FBS).

В среда ACL-3 времето за удвояване леко се удължава до 38 часа, докато в ACL-3, допълнена с говежди серумен албумин (BSA), то достига 42 часа. Тези вариации във времето за удвояване дават ценна представа за поведението на клетките при различни експериментални условия.

На 60-ия стадий клетките A427 показват хипотриплоиден до хипертриплоиден кариотип. Това означава, че клетките притежават аномални хромозоми, включително дицентрици, минути и голям субтелоцентричен маркер. Такива кариотипни аномалии често се свързват с раковите клетки и допринасят за уникалните характеристики на тази клетъчна линия. Клетките A427 проявяват туморогенни свойства, което им позволява да образуват тумори при инжектиране в голи мишки.

Тези тумори приличат на недиференциран аденокарцином, което допълнително подчертава значението на тази клетъчна линия за изучаване на белодробния рак и неговата прогресия. Със своите изключителни характеристики клетките A427 намират приложение в различни области, особено в изследванията на рака. Тяхната епителна морфология и белодробен произход ги превръщат в идеален модел за изучаване на белодробния рак и свързаните с него заболявания. Освен това клетките A427 са подходящи за 3D техники за клетъчно култивиране, което осигурява по-физиологична среда за изследване на поведението на клетките на белодробния рак.

Organism Човек

Tissue Бял дроб

Disease Карцином

Synonyms A-427, A427N

Характеристики

Age 52 години

Gender Мъжки

Ethnicity Кавказки

Morphology Подобни на епител

Growth properties Придържащи се

Клетки A427 | 300111

Регулаторни данни

Citation	A427 (каталожен номер 300111 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1055

Биомолекулярни данни

Protein expression	P53 положителен
Tumorigenic	Да, при голи мишки. Образува недиференциран тумор, предполагащ аденокарцином.
Karyotype	P60) хипотриплоиден до хипертриплоиден с аномалии, включително дицентрици, минути и голям субтелоцентричен маркер

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1 x 10 ⁴ клетки/cm ² ще доведе до конфлуентен монослой в рамките на 3 дни.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично

Клетки A427 | 300111

Post-Thaw Recovery

След размразяване, разположете клетките на 4×10^4 клетки/ cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^\circ\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминокробен агент с температура $37\text{ }^\circ\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^\circ\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Клетки A427 | 300111

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микопlasма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

A*: '03:01:01, '33:03:01
B*: '35:03:01
C*: '12:03:01
DRB1*: '04:08:01, '13:01:01
DQA1*: '01:03:01, '03:03:01
DQB1*: '03:04:01, '06:03:01
DPB1*: '04:01:01, '15:01:01
E: '01:01:01, '01:03