

A427 Buňky | 300111**Obecné informace****Description**

Buňky A427 pocházejí z plicní tkáně, konkrétně z karcinomu, vykazují epitelální morfologii a rostou adherentně. Buňky A427 mají dobu zdvojení přibližně 28 hodin v médiu RPMI 1640 doplněném 10% fetálním hovězím sérem (FBS).

V médiu ACL-3 se doba zdvojení mírně prodlužuje na 38 hodin, zatímco v médiu ACL-3 doplněném bovinním sérovým albuminem (BSA) dosahuje 42 hodin. Tyto rozdíly v době zdvojení poskytují cenné informace o chování buněk za různých experimentálních podmínek.

Při 60. průchodu vykazují buňky A427 hypotriploidní až hypertriploidní karyotyp. To znamená, že buňky mají abnormální chromozomy, včetně dicentrických, minutových a velkého subtelocentrického markeru. Tyto abnormality karyotypu jsou často spojovány s nádorovými buňkami a přispívají k jedinečným vlastnostem této buněčné linie. Buňky A427 vykazují tumorigenní vlastnosti, které jim umožňují vytvářet nádory po injekčním podání nahým myším.

Tyto nádory se podobají nediferencovanému adenokarcinomu, což dále zdůrazňuje význam této buněčné linie pro studium rakoviny plic a její progresu. Díky svým výjimečným vlastnostem nacházejí buňky A427 uplatnění v různých aplikacích, zejména ve výzkumu rakoviny. Jejich epitelální morfologie a plicní původ z nich činí ideální model pro studium rakoviny plic a souvisejících onemocnění. Kromě toho jsou buňky A427 vhodné pro techniky 3D buněčných kultur, které poskytují fyziologicky relevantnější prostředí pro zkoumání chování buněk rakoviny plic.

Organism Člověk**Tissue** Plíce**Disease** Karcinom**Synonyms** A-427, A427N**Charakteristika****Age** 52 let**Gender** Muži**Ethnicity** Kavkazský**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Adherentní

A427 Buňky | 300111**Regulační údaje**

Citation	A427 (katalogové číslo Cytion 300111)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1055

Biomolekulární data

Protein expression	P53 pozitivní
Tumorigenic	Ano, na nahých myších. Tvoří nediferencovaný nádor naznačující adenokarcinom.
Karyotype	P60) hypotriploidní až hypertriploidní s abnormalitami včetně dicentrik, minut a velkých subtelocentrických markerů

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO ₃ , w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:3 až 1:5
Seeding density	1 x 10 ⁴ buněk/cm ² vytvoří do 3 dnů konfluentní monovrstvu.

A427 Buňky | 300111**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste buňky v množství 4×10^4 buněk/cm² a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.**Thawing and Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.**Flask Coating** Žádný

A427 Buňky | 300111

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 10,12
D13S317: 11,12
D16S539: 11,13
D5S818: 12
D7S820: 8,12
TH01: 9
TPOX: 8,11
vWA: 17
D3S1358: 16
D21S11: 32.2
D18S51: 12
Penta E: 15,17
Penta D: 13
D8S1179: 12,13
FGA: 18

A427 Buňky | 300111

Alely HLA

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