

A427 rakud | 300111

Üldine teave

Description

A427 rakud pärinevad kopsukoes, täpsemalt kartsinoomist, omavad epiteeli morfoloogiat ja kasvavad adherentselt. A427 rakkude kahekordistumisaeg on ligikaudu 28 tundi RPMI 1640 keskkonnas, mida on täiendatud 10% veiste loote seerumiga (FBS).

ACL-3 keskkonnas on kahekordistumisaeg veidi pikenenud 38 tunnini, samas kui ACL-3 keskkonnas, mida on täiendatud veise seerumi albumiiniga (BSA), ulatub see 42 tunnini. Need erinevused kahekordistumisaegades annavad väärtusliku ülevaate rakkude käitumisest erinevates katsetingimustes.

Passaaži 60 korral on A427 rakkudel hüpotriploidne kuni hüpertriploidne karüotüüp. See tähendab, et rakkudel on ebanormaalsed kromosoomid, sealhulgas ditsentrilised kromosoomid, minutid ja suur subtelotsentriline marker. Selliseid karyotüübi kõrvalekaldeid seostatakse sageli vähirakkudega ja need aitavad kaasa selle rakuliini ainulaadsete omaduste kujunemisele. A427 rakkudel on tumorigeensed omadused, mis võimaldavad neil nude hiirtele süstimisel moodustada kasvaja.

Need kasvaja sarnanevad diferentseerimata adenokartsinoomiga, mis rõhutab veelgi selle rakuliini tähtsust kopsuvähi ja selle progresseerumise uurimisel. Tänu oma erakordsetele omadustele leiavad A427 rakud kasutust erinevates rakendustes, eelkõige vähiuuringutes. Nende epiteliaalne morfoloogia ja kopsude päritolu teevad neist ideaalse mudeli kopsuvähi ja sellega seotud haiguste uurimiseks. Lisaks sellele sobivad A427 rakud hästi 3D rakukultuurimeetodite jaoks, pakkudes füsioloogiliselt asjakohasemat keskkonda kopsuvähirakkude käitumise uurimiseks.

Organism Inimene

Tissue Kopsud

Disease Kartsinoom

Synonyms A-427, A427N

Omadused

Age 52 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Kinnipeetav

A427 rakud | 300111

Regulatiivsed andmed

Citation	A427 (Cytioni katalooginumber 300111)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1055

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression	P53 positiivne
Tumorigenic	Jah, alasti hiirtel. Moodustab diferentseerimata kasvaja, mis viitab adenokartsinoomile.
Karyotype	P60) hüpotriploid kuni hüpertriploid, millel on kõrvalekaldeid, sealhulgas ditsentrilised, minutilised ja suured subtelotsentrilised markerid

Töötlemine

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	1 x 10 ⁴ rakku/cm ² annab 3 päeva jooksul konfluentse monokihi.
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas

A427 rakud | 300111

Post-Thaw Recovery

Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 4×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

A427 rakud | 300111

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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