

**A427 ląstelės | 300111****Bendra informacija****Description**

A427 ląstelės yra kilusios iš plaučių audinio, konkrečiai iš karcinomos, pasižymi epitelio morfologija ir auga adherentiškai. A427 ląstelių padvigubėjimo laikas yra maždaug 28 valandos RPMI 1640 terpėje, papildytoje 10 % fetalinio galvijų serumo (FBS).

ACL-3 terpėje padvigubėjimo laikas šiek tiek pailgėja iki 38 valandų, o ACL-3 terpėje, papildytoje galvijų serumo albuminu (BSA), - iki 42 valandų. Šie padvigubėjimo trukmės skirtumai suteikia vertingų žinių apie ląstelių elgseną skirtingomis eksperimentinėmis sąlygomis.

Kai A427 ląstelės būna 60-ties metų, jų kariotipas būna nuo hipotriploidinio iki hipertriploidinio. Tai reiškia, kad ląstelės turi neįprastų chromosomų, įskaitant dicentrikas, minutes ir didelį subtelocentrinį žymenį. Tokios kariotipo anomalijos dažnai būna susijusios su vėžinėmis ląstelėmis ir lemia unikalios šios ląstelių linijos savybes. A427 ląstelės pasižymi navikinėmis savybėmis, todėl įšvirktos į nuogas peles jos suformuoja navikus.

Šie navikai panašūs į nediferencijuotą adenokarcinomą, o tai dar labiau pabrėžia šios ląstelių linijos svarbą tiriant plaučių vėžį ir jo progresavimą. A427 ląstelės pasižymi išskirtinėmis savybėmis, todėl jas galima panaudoti įvairiose srityse, ypač vėžio tyrimuose. Dėl jų epitelio morfologijos ir plaučių kilmės jos yra idealus modelis plaučių vėžiui ir su juo susijusioms ligoms tirti. Be to, A427 ląstelės puikiai tinka 3D ląstelių auginimo metodams, todėl plaučių vėžio ląstelių elgsenai tirti sukuriama fiziologiškai tinkamesnė aplinka.

**Organism** Žmogus**Tissue** Plaučiai**Disease** Karcinoma**Synonyms** A-427, A427N**Charakteristikos****Age** 52 metai**Gender** Vyras**Ethnicity** Kaukaziečių**Morphology** | epitelį panašus**Growth properties** Prigludęs**Reguliavimo duomenys**

**A427 ląstelės | 300111****Citation** A427 (Cytion katalogo numeris 300111)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_1055**Biomolekuliniai duomenys****Protein expression** P53 teigiamas**Tumorigenic** Taip, nuogoms pelėms. Formuojasi nediferencijuotas navikas, panašus į adenokarcinomą.**Karyotype** P60) nuo hipotriploidinio iki hipertriploidinio su anomalijomis, įskaitant dicentriką, minutes ir dideles subtelocentrines žymes**Tvarkymas****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  ląstelės/cm<sup>2</sup> per 3 dienas suformuos konfluentinį monosluoksni.**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles  $4 \times 10^4$  ląstelių/cm<sup>2</sup> tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

**A427 ląstelės | 300111****Freeze medium**

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

**Flask Coating**

Nėra

**Freezing Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## A427 ląstelės | 300111

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

### HLA aleliai

**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