

A427 šūnas | 300111

Vispārīga informācija

Description

A427 šūnas nāk no plaušu audiem, īpaši no karcinomas, tām ir epitēlija morfoloģija un tās aug adherenti. A427 šūnu dubultošanās laiks ir aptuveni 28 stundas RPMI 1640 barotnē, kas papildināta ar 10 % liellopu fetālā seruma (FBS).

ACL-3 barotnē dubultošanās laiks nedaudz pagarinās līdz 38 stundām, bet ACL-3 barotnē, kas papildināta ar liellopu seruma albumīnu (BSA), tas sasniedz 42 stundas. Šīs divkāršošanās laika atšķirības sniedz vērtīgu ieskatu par šūnu uzvedību dažādos eksperimentālos apstākļos.

A427 šūnām 60. iznākuma stadijā ir hipotriplōids līdz hipertriplōids kariotips. Tas nozīmē, ka šūnām ir patoloģiskas hromosomas, tostarp dicentrikas, minūtes un liels subtelocentriskais marķieris. Šādas kariotipa anomālijas bieži vien ir saistītas ar vēža šūnām un veicina šīs šūnu līnijas unikālās īpašības. A427 šūnām piemīt tumorogēnas īpašības, kas ļauj tām veidot audzējus, injicējot nude pelēm.

Šie audzēji atgādina nediferencētu adenokarcinomu, kas vēl vairāk uzsver šīs šūnu līnijas nozīmi plaušu vēža un tā progresēšanas izpētē. A427 šūnas ar to izcilajām īpašībām ir noderīgas dažādiem pielietojumiem, jo īpaši vēža pētījumos. To epitēlija morfoloģija un plaušu izcelsme padara tās par ideālu modeli plaušu vēža un ar to saistīto slimību izpētei. Turklāt A427 šūnas ir labi piemērotas 3D šūnu kultivēšanas metodēm, nodrošinot fizioloģiski atbilstošāku vidi plaušu vēža šūnu uzvedības izpētei.

Organism Cilvēks

Tissue Plaušas

Disease Karcinoma

Synonyms A-427, A427N

Raksturojums

Age 52 gadi

Gender Vīrieši

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Epitēlijveidīgs

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

A427 šūnas | 300111

Citation A427 (Cytion kataloga numurs 300111)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1055**Biomolekulārie dati****Protein expression** P53 pozitīvs**Tumorigenic** Jā, kailām pelēm. Veido nediferencētu audzēju, kas liecina par adenokarcinomu.**Karyotype** P60) hipotriploīds līdz hipertriploīds ar anomālijām, ieskaitot dicentriju, minūtes un lielu subtelocentrisku marķieri**Darbs ar****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density** 1×10^4 šūnas/cm² 3 dienu laikā izveidos konfluentu monoslāni.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 4×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

A427 šūnas | 300111

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

A427 šūnas | 300111

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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