

## 2427T šūnas | 300167

## Vispārīga informācija

## Description

2427T, kas iegūts no 64 gadus vecas kaukāzietes pacientes, kurai diagnosticēta plaušu plakanšūnu karcinoma, primārā audzēja, ir vērtīgs in vitro modelis, kas ataino sākotnējā audzēja audu morfoloģiskās īpašības. 2427T šūnām, kurām raksturīga raksturīga maza, apaļa forma un tieksme apvienoties kopās, piemīt galvenās morfoloģiskās pazīmes, kas raksturīgas plakanšūnu karcinomai (SCC).

Raksturīga 2427T šūnu līnijas iezīme ir citokeratīna 5/6 (CK5/6) ekspresija, kas norāda uz SCC izcelsmi. Nevienmērīga CK5/6 ekspresija norāda uz dažādu šūnu subpopulāciju klātbūtni 2427T kultūrā, radot iespēju turpmāk pētīt intratumorālo heterogenitāti.

2427T imūnfenotipēšana atklāja tās unikālo profilu, tostarp ar adenokarcinomu saistītā marķiera CK7, hemato-endotēlija progenitoru marķiera CD34 un leikocītu marķiera CD45 trūkumu, kas pastiprina tās klasifikāciju plakanas līnijas ietvaros. Interesanti, ka, lai gan šūnu līnija kopumā uzrāda negatīvu neuroendokrīno marķieru, piemēram, CD56, sinaptofizīna (SYP), neironiem specifiskās enolāzes (NSE) un hromogranīna A (CHGA) klātbūtni, SYP ekspresija šūnu apakšgrupā norāda uz zināmu neuroendokrīno marķieru heterogenitāti.

Būtiski, ka 2427T šūnu līnijā nav EGF-R vai k-ras mutāciju, kas to atšķir no citiem modeļiem un uzsver tās potenciālu kā jaunu resursu, lai izpētītu plakanšūnu plaušu vēža (NSCLC) bioloģiju un terapeitisko ievainojamību. Tas, ka 2427T nav izplatītu onkogēnu mutāciju, ļauj to uzskatīt par nenovērtējamu instrumentu pētījumiem, kuru mērķis ir atklāt plakanšūnu karcinomas patoģenēzes un progresēšanas pamatmehānismus.

**Organism** Cilvēks

**Tissue** Plaušas

**Disease** Plaušu plakanšūnu karcinoma

## Raksturojums

**Age** 64 gadi

**Gender** Sievietes

**Ethnicity** Kaukāzietis

**Growth properties** Adherent

## Normatīvie dati

**Citation** 2427T (Cytion kataloga numurs 300167)

## 2427T šūnas | 300167

NCBI_TaxID	9606
------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_M070
----------------------	-----------

**Biomolekulārie dati**

Protein expression	Sinaptofizīns (SYP)
--------------------	---------------------

Antigen expression	Daļēja CK5/6 ekspresija
--------------------	-------------------------

Tumorigenic	Ļoti audzēja nude peles.
-------------	--------------------------

**Darbs ar**

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO <sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)
----------------	--

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
-------------	-------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
----------------------	----------

Subculturing	Noņemt 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.
--------------	--

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam 50 % bāzes barotni + 40 % FBS + 10 % DMSO vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu reģenerāciju un samazinātu krioinducēto stresu.
---------------	---

## 2427T šūnas | 300167

### 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 °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 x 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%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

### Freezing Procedure

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.

## 2427T šūnas | 300167

### 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\***: 0,042372685, '68:01:02  
**B\***: '07:02:01, '51:01:01  
**C\***: '07:02:01, '15:02:01  
**DRB1\***: '04:04:01, '11:01:01  
**DQA1\***: '03:01:01, '05:05:01  
**DQB1\***: '03:01:01, '03:02:01  
**DPB1\***: '03:01:01, '04:01:01  
**E**: '01:01:01