

A427 Celler | 300111**Generell informasjon****Description**

A427-celler stammer fra lungevev, nærmere bestemt et karsinom, har epitel morfologi og vokser adherent. A427-celler har en fordoblingstid på ca. 28 timer i RPMI 1640-medium supplert med 10 % føtalt bovint serum (FBS).

I ACL-3-medium er fordoblingstiden noe forlenget til 38 timer, mens den i ACL-3 supplert med bovint serumalbumin (BSA) når opp i 42 timer. Disse variasjonene i fordoblingstid gir verdifull innsikt i hvordan cellene oppfører seg under ulike eksperimentelle forhold.

Ved passasje 60 viser A427-celler en hypotriploid til hypertriploid karyotype. Det betyr at cellene har unormale kromosomer, inkludert tosentriske kromosomer, minutter og en stor subtelosentrisk markør. Slike karyotypiske abnormiteter er ofte assosiert med kreftceller og bidrar til de unike egenskapene til denne cellelinjen. A427-celler har tumorogene egenskaper, noe som gjør at de kan danne svulster når de injiseres i nakne mus.

Disse svulstene ligner udifferensierte adenokarsinomer, noe som ytterligere understreker relevansen av denne cellelinjen i studier av lungekreft og dens progresjon. Med sine eksepsjonelle egenskaper kan A427-cellelinjen brukes til en rekke formål, særlig innen kreftforskning. Cellenes epitel morfologi og lungeopprinnelse gjør dem til en ideell modell for studier av lungekreft og relaterte sykdommer. I tillegg er A427-celler godt egnet for 3D-cellekulturteknikker, noe som gir et mer fysiologisk relevant miljø for å utforske hvordan lungekreftceller oppfører seg.

Organism Menneskelig**Tissue** Lunge**Disease** Karsinom**Synonyms** A-427, A427N**Kjennetegn****Age** 52 år**Gender** Mann**Ethnicity** Kaukasisk**Morphology** Epitel-lignende**Growth properties** Vedhengende**Regulatoriske data**

A427 Celler | 300111**Citation** A427 (Cytion-katalognummer 300111)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1055**Biomolekylære data****Protein expression** P53-positiv**Tumorigenic** Ja, i nakne mus. Danner en udifferensiert svulst som tyder på adenokarsinom.**Karyotype** P60) hypotriploid til hypertriploid med abnormaliteter, inkludert diksentrik, minutter og stor subtelosentrisk markør**Håndtering****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO₃, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** Et forhold på 1:3 til 1:5 anbefales**Seeding density** 1×10^4 celler/cm² vil resultere i et sammenflytende monolag innen 3 dager.**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke

A427 Cells | 300111

Post-Thaw Recovery

Etter tining, plasser cellene på 4×10^4 celler/cm² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

A427 Celler | 300111**Shipping
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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

HLA-alleler

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