

Bunky A427 | 300111**Všeobecné informácie****Description**

Bunky A427 pochádzajú z pľúcneho tkaniva, konkrétne z karcinómu, majú epitelovú morfológiu a rastú adherentne. Bunky A427 majú čas zdvojenia približne 28 hodín v médiu RPMI 1640 doplnenom 10 % fetálneho hovädzieho séra (FBS).

V médiu ACL-3 sa čas zdvojenia mierne predlžuje na 38 hodín, zatiaľ čo v médiu ACL-3 doplnenom hovädzím sérovým albumínom (BSA) dosahuje 42 hodín. Tieto rozdiely v čase zdvojenia poskytujú cenné poznatky o správaní buniek za rôznych experimentálnych podmienok.

V 60. štádiu vykazujú bunky A427 hypotriploidný až hypertriploidný karyotyp. To znamená, že bunky majú abnormálne chromozómy vrátane dicentrických, minútových a veľkého subtelocentrického markera. Takéto abnormality karyotypu sa často spájajú s rakovinovými bunkami a prispievajú k jedinečným vlastnostiam tejto bunkovej línie. Bunky A427 vykazujú tumorigénne vlastnosti, ktoré im umožňujú tvorbu nádorov po injekčnom podaní nahým myšiam.

Tieto nádory sa podobajú nediferencovanému adenokarcinómu, čo ešte viac zdôrazňuje význam tejto bunkovej línie pri štúdiu rakoviny pľúc a jej progresie. Vďaka svojim výnimočným vlastnostiam nachádzajú bunky A427 využitie v rôznych aplikáciách, najmä vo výskume rakoviny. Ich epitelová morfológia a pľúcny pôvod z nich robia ideálny model na štúdium rakoviny pľúc a súvisiacich ochorení. Okrem toho sú bunky A427 vhodné pre techniky 3D bunkových kultúr, ktoré poskytujú fyziologicky relevantnejšie prostredie na skúmanie správania buniek rakoviny pľúc.

Organism Ľudské**Tissue** Pľúca**Disease** Karcinóm**Synonyms** A-427, A427N**Charakteristika****Age** 52 rokov**Gender** Muži**Ethnicity** Kaukazský**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Adherent

Bunky A427 | 300111**Regulačné údaje**

Citation	A427 (katalógové číslo Cytion 300111)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1055

Biomolekulárne údaje

Protein expression	P53 pozitívny
Tumorigenic	Áno, na nahých myšiach. Vytvára nediferencovaný nádor naznačujúci adenokarcinóm.
Karyotype	P60) hypotriploidné až hypertriploidné s abnormalitami vrátane dicentrie, minút a veľkého subtelocentrického markera

Spracovanie

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Seeding density	1×10^4 buniek/cm ² vytvorí konfluentnú monovrstvu do 3 dní.
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne

Bunky A427 | 300111

Post-Thaw Recovery

Po rozmrazení naneste bunky v koncentracii 4×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Bunky A427 | 300111

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Alely HLA

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