

A427 Клітини | 300111

Загальна інформація

Description

Клітини A427 походять з легеневої тканини, зокрема карциноми, мають епітеліальну морфологію і ростуть адгезивно. Час подвоєння клітин A427 становить приблизно 28 годин у середовищі RPMI 1640 з додаванням 10% фетальної сироватки великої рогатої худоби (FBS).

У середовищі ACL-3 час подвоєння дещо збільшується до 38 годин, тоді як у середовищі ACL-3, доповненому бичачим сироватковим альбуміном (BSA), він досягає 42 годин. Ці відмінності у часі подвоєння дають цінну інформацію про поведінку клітин за різних експериментальних умов.

На 60-му пасажі клітини A427 мають каріотип від гіпотриплоїдного до гіпертриплоїдного. Це означає, що клітини мають аномальні хромосоми, включаючи дицентрики, мінуси та великий субтелоцентричний маркер. Такі каріотипічні аномалії часто асоціюються з раковими клітинами і сприяють унікальним характеристикам цієї клітинної лінії. Клітини A427 мають туморогенні властивості, що дозволяє їм утворювати пухлини при введенні голим мишам.

Ці пухлини нагадують недиференційовану аденокарциному, що ще більше підкреслює актуальність цієї клітинної лінії для вивчення раку легенів та його прогресування. Завдяки своїм винятковим властивостям клітини A427 знаходять застосування в різних галузях, зокрема в дослідженнях раку. Їх епітеліальна морфологія та легеневе походження роблять їх ідеальною моделлю для вивчення раку легенів та пов'язаних з ним захворювань. Крім того, клітини A427 добре підходять для методів 3D-культивування клітин, забезпечуючи більш фізіологічне середовище для вивчення поведінки клітин раку легенів.

Organism Людина

Tissue Легені

Disease Карцинома

Synonyms A-427, A427N

Характеристики

Age 52 роки

Gender Чоловік

Ethnicity Кавказець

Morphology Епітеліальноподібні

Growth properties Адепт

A427 Клітини | 300111

Нормативні дані

Citation	A427 (каталожний номер 300111)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1055

Біомолекулярні дані

Protein expression	P53 позитивний
Tumorigenic	Так, у голих мишей. Утворює недиференційовану пухлину, схожу на аденокарциному.
Karyotype	P60) гіпотриплоїдний до гіпертриплоїдного з аномаліями, включаючи дицентрики, мінуси та великий субтелоцентричний маркер

Обробка

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 мМ L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO ₃ , w: EBSS (цит. номер 820100a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300хг протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Seeding density	1 x 10 ⁴ клітин/см ² призведе до утворення конфлюентного моношару протягом 3 днів.
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень

A427 Клітини | 300111

Post-Thaw Recovery

Після розморожування висійте клітини з щільністю 4×10^4 клітин/ cm^2 і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.

Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Hi

A427 Клітини | 300111

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

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