Product sheet

Клетки A431 | 300112

Обща информация

Description	Клетъчната линия A431, получена от солиден епидермоиден карцином на 85-годишна пациентка, е човешка туморна клетъчна линия с епителна морфология, която обикновено расте на групи. Клетъчната линия A-431 се използва широко в проучванията на рака, токсичността и имуноонкологията, като служи като положителна контрола за експресията на рецептора на епидермалния растежен фактор (EGF) поради високата си рецепторна плътност. При свързването на EGF с неговия рецептор (EGFR) на повърхността на клетките A-431 се извършва бързо тирозинфосфорилиране на мембранни протеини, което задейства каскада от вътреклетъчни сигнални пътища. Тези пътища включват MAPK/ERK и PI3K/AKT пътищата, които са ключови за регулирането на прогресията на клетъчния цикъл, оцеляването и пролиферацията. EGFR стимулира клетъчната пролиферация при ниски концентрации, докато при по-високи концентрации инхибира растежа и предизвиква терминална диференциация в клетките A431. Този динамичен отговор към EGFR подчертава полезността на клетъчната линия за изследване на сигналните пътища и клетъчния цикъл в контекста на рака. Моделите на ксенографт, получени от клетките на A-431, се използват за изучаване на поведението на туморите в жива среда и за оценка на противоракови терапии. Тези модели помагат да се оцени как лечениятa, като например добавяне на EGF и облъчване, влияят на туморния растеж и подчертават чувствителността на клетките към облъчване. В обобщение, клетъчната линия A-431 служи като безценен клетъчен модел на човешки епидермоиден карцином, като улеснява по-задълбоченото разбиране на сигнализацията на EGFR, туморната биология и разработването на терапевтични интервенции, насочени към борбата с епидермоидния карцином и други свързани с него видове рак.
Organism	Човек
Tissue	Епидермоиден
Disease	Плоскоклетъчен карцином
Synonyms	A-431, A431/P

Характеристики

Age	85 години
Gender	Жена
Morphology	Епителиални, плоски многоъгълни

Клетки A431 | 300112

Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	A431 (каталожен номер 300112 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0037

Биомолекулярни данни

Receptors expressed	Свързващи места на EGF
Protein expression	P53 положителен
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 2
Tumorigenic	Да, при имуносупресирани мишки
Products	HBp17
Mutational profile	BRAF V600Ewt
Karyotype	Шест маркерни хромозоми с пренареждания: der(6), der(7), der(17), der(21), dic(13,14) и dic(14,18). Амплификация на C-MYC онкоген в 8q24 в две маркерни хромозоми: dup(8)(q24) и der(15)t(8,15)(q22,p11).

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS

Клетки A431 | 300112

Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1 x 10^4 клетки/cm^2 ще доведе до конфлуентен монослой в рамките на 4 дни.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10^4 клетки/cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки A431 | 300112

Thawing and Culturing Cells	1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането. 2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране. 3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка. 4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол. 5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно. 6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда. 7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките. 8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма
Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки A431 | 300112

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.
HLA алели	**A***: '03:01:01 **B***: '07:02:01 **C***: '07:02:01 **DRB1***: '11:04:01 **DQA1***: '05:05:01 **DQB1***: '03:01:01 **DPB1***: '15:01:01 **E**: '01:03:01, '01:03:02