Product sheet

A431 Buňky | 300112

Obecné informace

Description	Buněčná linie A431, odvozená ze solidního nádoru epidermoidního karcinomu u 85leté pacientky, je lidská nádorová buněčná linie s epiteliální morfologií, typicky rostoucí ve shlucích. Buněčná linie A-431 je hojně využívána v nádorových studiích, studiích toxicity a imunoonkologických studiích a díky vysoké hustotě receptorů slouží jako pozitivní kontrola exprese receptorů pro epidermální růstový faktor (EGF). Po navázání EGF na jeho receptor (EGFR) na povrchu buněk A431 dochází k rychlé tyrozinové fosforylaci membránových proteinů, která spouští kaskádu intracelulárních signálních drah. Tyto dráhy zahrnují dráhy MAPK/ERK a PI3K/AKT, které jsou klíčové pro regulaci progrese buněčného cyklu, přežití a proliferace. EGFR v nízkých koncentracích stimuluje buněčnou proliferaci, zatímco ve vyšších koncentracích inhibuje růst a indukuje terminální diferenciaci buněk A431. Tato dynamická reakce na EGFR podtrhuje užitečnost buněčné linie při zkoumání buněčných signálních drah a buněčného cyklu v kontextu rakoviny. Xenografty odvozené z buněk A-431 se používají ke studiu chování nádorů v živém prostředí a k hodnocení protinádorových terapií. Tyto modely pomáhají posoudit, jak léčba, například doplňování EGF a ozařování, ovlivňuje růst nádoru, a zdůrazňují citlivost buněk na ozařování. Lze shrnout, že buněčná linie A-431 slouží jako neocenitelný buněčný model lidského epidermoidního karcinomu, který usnadňuje hlubší pochopení signalizace EGFR, biologie nádorů a vývoj terapeutických zásahů zaměřených na boj proti epidermoidnímu karcinomu a dalším příbuzným nádorům.
Organism	Člověk
Tissue	Epidermoidní
Disease	Dlaždicobuněčný karcinom
Synonyms	A-431, A431/P

Charakteristika

Age	85 let
Gender	Ženy
Morphology	Epiteloidní, ploché polygonální
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Product sheet

A431 Buňky | 300112

Citation	A431 (katalogové číslo Cytion 300112)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0037

Biomolekulární data

Receptors expressed	Vazby na EGF
Protein expression	P53 pozitivní
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 2
Tumorigenic	Ano, u imunosuprimovaných myší
Products	HBp17
Mutational profile	BRAF V600Ewt
Karyotype	Šest markerových chromozomů s přestavbami: der(6), der(7), der(17), der(21), dic(13,14) a dic(14,18). Amplifikace onkogenu C-MYC na 8q24 ve dvou markerových chromozomech: dup(8)(q24) a der(15)t(8,15)(q22,p11).

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

A431 Buňky | 300112

Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:3 až 1:8
Seeding density	1 x 10^4 buněk/cm^2 vytvoří konfluentní monovrstvu během 4 dnů.
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10^4 buněk/cm^2 a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells	1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty. 2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace. 3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec. 4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem. 5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte. 6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte. 7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk. 8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.
Profil STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 11,12 **D13S317**: 9,13 **D16S539**: 12,14 **D5S818**: 12,13 **D7S820**: 10 **TH01**: 9 **TPOX**: 11 **vWA**: 15,17 **D3S1358**: 14 **D21S11**: 28,3
Alely HLA	**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