

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 progresu 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**

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** Doplněte 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 odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte 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 1×10^4 buněk/cm² vytvoří konfluentní monovrstvu během 4 dnů.

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste buňky v množství 5×10^4 buněk/cm² 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.

A431 Buňky | 300112

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, 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 odstředujte 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 % CO_2 , 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.

A431 Buňky | 300112

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 / Genetický profil / HLA

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