Product sheet

A431-Zellen | 300112

Allgemeine Informationen

Description	Die A431-Zelllinie, die von einem soliden Epidermoid-Karzinom-Tumor einer 85-jährigen Patientin stammt, ist eine menschliche Tumorzelllinie mit epithelialer Morphologie, die typischerweise in Clustern wächst. Die A-431-Zelllinie wird häufig in Krebs-, Toxizitäts- und Immunonkologiestudien eingesetzt und dient aufgrund ihrer hohen Rezeptordichte als positive Kontrolle für die Expression des epidermalen Wachstumsfaktors (EGF). Nach der Bindung von EGF an seinen Rezeptor (EGFR) auf der Oberfläche von A431-Zellen kommt es zu einer raschen Tyrosinphosphorylierung von Membranproteinen, die eine Kaskade von intrazellulären Signalwegen auslöst. Zu diesen Signalwegen gehören der MAPK/ERK- und der PI3K/AKT-Signalweg, die bei der Regulierung der Zellzyklusprogression, des Überlebens und der Proliferation eine zentrale Rolle spielen. EGFR stimuliert die Zellproliferation bei niedrigen Konzentrationen, während er bei höheren Konzentrationen das Wachstum hemmt und eine terminale Differenzierung in A431-Zellen bewirkt. Diese dynamische Reaktion auf EGFR unterstreicht den Nutzen der Zelllinie bei der Erforschung von Zellsignalwegen und des Zellzyklus im Zusammenhang mit Krebs. Aus A-431-Zellen abgeleitete Xenograft-Modelle werden zur Untersuchung des Tumorverhaltens in einer lebenden Umgebung und zur Evaluierung von Krebstherapien verwendet. Anhand dieser Modelle lässt sich beurteilen, wie sich Behandlungen wie EGF-Supplemente und Bestrahlung auf das Tumorwachstum auswirken, und die Empfindlichkeit der Zellen gegenüber Bestrahlung wird deutlich. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die A-431-Zelllinie als Zellmodell für das menschliche Epidermoidkarzinom von unschätzbarem Wert ist und ein tieferes Verständnis der EGFR-Signalübertragung, der Tumorbiologie und der Entwicklung von therapeutischen Maßnahmen zur Bekämpfung des Epidermoidkarzinoms und anderer verwandter Krebsarten ermöglicht.
Organism	Menschen
Tissue	Epidermoid
Disease	Plattenepithelkarzinom
Synonyms	A-431, A431/P

Merkmale

Age	85 Jahre
Gender	Weiblich
Morphology	Epithelähnlich, flach polygonal
Growth properties	Adhärent

Product sheet

A431-Zellen | 300112

Regulatorische Daten

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

Biomolekulare Daten

Receptors expressed	EGF-Bindungsstellen
Protein expression	P53 positiv
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 2
Tumorigenic	Ja, bei immunsupprimierten Mäusen
Products	HBp17
Mutational profile	BRAF V600Ewt
Karyotype	Sechs Marker-Chromosomen mit Rearrangements: der(6), der(7), der(17), der(21), dic(13,14) und dic(14,18). Amplifikation des C-MYC-Onkogens auf 8q24 in zwei Marker-Chromosomen: dup(8)(q24) und der(15)t(8,15)(q22,p11).

Handhabung

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

A431-Zellen | 300112

Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Split ratio	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3 bis 1:8
Seeding density	1 x 10^4 Zellen/cm² führen innerhalb von 4 Tagen zu einer konfluenten Monoschicht.
Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche
Post-Thaw Recovery	Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5 x 10^4 Zellen/cm^2 ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhärieren lassen.
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

A431-Zellen | 300112

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.

2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.

3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.

4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.

5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.

6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.

7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.

8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.
STR-Profil	**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
HLA-Allele	**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