Product sheet

Κύτταρα A431 | 300112

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά A431, που προέρχεται από συμπαγή όγκο επιδερμοειδούς καρκινώματος σε γυναίκα ασθενή 85 ετών, είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά όγκου με επιθηλιακή μορφολογία, που συνήθως αναπτύσσεται σε ομάδες. Η κυτταρική σειρά A-431 χρησιμοποιείται εκτενώς σε μελέτες καρκίνου, τοξικότητας και ανοσο-ογκολογίας, χρησιμεύοντας ως θετικός έλεγχος για την έκφραση του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGF) λόγω της υψηλής πυκνότητας των υποδοχέων της. Μετά τη σύνδεση του EGF με τον υποδοχέα του (EGFR) στην επιφάνεια των κυττάρων A431, λαμβάνει χώρα μια ταχεία φωσφορυλίωση τυροσίνης των μεμβρανικών πρωτεϊνών, πυροδοτώντας έναν καταρράκτη ενδοκυτταρικών σηματοδοτικών μονοπατιών. Τα μονοπάτια αυτά περιλαμβάνουν τα μονοπάτια MAPK/ERK και PI3K/AKT, τα οποία είναι καθοριστικής σημασίας για τη ρύθμιση της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου, της επιβίωσης και του πολλαπλασιασμού. Ο EGFR διεγείρει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό σε χαμηλές συγκεντρώσεις, ενώ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις αναστέλλει την ανάπτυξη και επάγει την τελική διαφοροποίηση στα κύτταρα A431. Αυτή η δυναμική απόκριση στον EGFR υπογραμμίζει τη χρησιμότητα της κυτταρικής σειράς στη διερεύνηση των μονοπατιών κυτταρικής σηματοδότησης και του κυτταρικού κύκλου στο πλαίσιο του καρκίνου. Τα μοντέλα ξενομοσχευμάτων που προέρχονται από κύτταρα A-431 χρησιμοποιούνται για τη μελέτη της συμπεριφοράς του όγκου σε ζωντανό περιβάλλον και την αξιολόγηση αντικαρκινικών θεραπειών. Τα μοντέλα αυτά βοηθούν στην αξιολόγηση του τρόπου με τον οποίο οι θεραπείες, όπως η χορήγηση EGF και η ακτινοβολία, επηρεάζουν την ανάπτυξη του όγκου και αναδεικνύουν την ευαισθησία των κυττάρων στην ακτινοβολία. Συνοπτικά, η κυτταρική σειρά A-431 χρησιμεύει ως ένα ανεκτίμητο κυτταρικό μοντέλο ανθρώπινου επιδερμοειδούς καρκινώματος, διευκολύνοντας τη βαθύτερη κατανόηση της σηματοδότησης του EGFR, της βιολογίας του όγκου και την ανάπτυξη θεραπευτικών παρεμβάσεων με στόχο την καταπολέμηση του επιδερμοειδούς καρκινώματος και άλλων συναφών καρκίνων.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Επιδερμοειδές
Disease	Καρκίνωμα πλακωδών κυττάρων
Synonyms	A-431, A431/P

Χαρακτηριστικά

Age	85 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Morphology	Επιθηλιοειδής, επίπεδη πολυγωνική

Κύτταρα A431 | 300112

Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	Θέσεις πρόσδεσης του EGF
Protein expression	P53 θετικό
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 2
Tumorigenic	Ναι, σε ανοσοκατασταλμένα ποντίκια
Products	HBp17
Mutational profile	BRAF V600Ewt
Karyotype	Έξι χρωμοσώματα-δείκτες με αναδιατάξεις: der(6), der(7), der(17), der(21), dic(13,14) και dic(14,18). Ενίσχυση του ογκογονιδίου C-MYC στο 8q24 σε δύο χρωμοσώματα-δείκτες: dup(8)(q24) και der(15)t(8,15)(q22,p11).

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Κύτταρα A431 | 300112

Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	1 x 10^4 κύτταρα/cm^2 θα οδηγήσουν σε συγχωνευμένη μονοστρωματική κυτταρική καλλιέργεια εντός 4 ημερών.
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5 x 10^4 κύτταρα/cm^2 και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα A431 | 300112

Thawing and Culturing Cells	1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά. 2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια. 3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου. 4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα. 5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά. 6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης. 7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων. 8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα
Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα A431 | 300112

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.
HLA αλληλόμορφα	**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