Product sheet

A431 rakud | 300112

Üldine teave

Description	A431 rakuliin, mis on saadud 85-aastase naissoost patsiendi soliidse epidermoidkartsinoomi kasvajast, on inimese epiteliaalse morfoloogiaga rakuliin, mis kasvab tavaliselt klastrites. A-431 rakuliini kasutatakse laialdaselt vähi, toksilisuse ja immunonkoloogia uuringutes, kuna see on suure retseptori tiheduse tõttu positiivne kontroll epidermise kasvufaktori (EGF) retseptori ekspressiooni suhtes. Kui EGF seondub oma retseptoriga (EGFR) A431 rakkude pinnal, toimub membraanvalkude kiire türosiinfosforüleerimine, mis käivitab rakusiseste signaaliradade kaskaadi. Nende radade hulka kuuluvad MAPK/ERK ja PI3K/AKT radad, mis on olulised rakutsükli progresseerumise, ellujäämise ja proliferatsiooni reguleerimisel. EGFR stimuleerib rakkude proliferatsiooni väikestes kontsentratsioonides, samas kui kõrgemates kontsentratsioonides see pärsib kasvu ja kutsub esile A431 rakkude terminaalset diferentseerumist. Selline dünaamiline vastus EGFRile rõhutab rakuliini kasulikkust raku signaaliradade ja rakutsükli uurimisel vähi kontekstis. A-431 rakkudest saadud ksenotransplantaate kasutatakse kasvajate käitumise uurimiseks elus keskkonnas ja vähivastaste ravimeetodite hindamiseks. Need mudelid aitavad hinnata, kuidas ravimeetodid, näiteks EGF-lisa ja kiiritus, mõjutavad kasvaja kasvu, ning rõhutada rakkude tundlikkust kiirguse suhtes. Kokkuvõttes on rakuliin A-431 hindamatu väärtusega inimese epidermoidkartsinoomi rakumudel, mis aitab sügavamalt mõista EGFR-signalisatsiooni, kasvaja bioloogiat ja töötada välja ravimeetodid, mille eesmärk on võidelda epidermoidkartsinoomi ja teiste sellega seotud vähivormide vastu.
Organism	Inimene
Tissue	Epidermoid
Disease	Rakk-kartsinoom
Synonyms	A-431, A431/P

Omadused

Age	85 aastat
Gender	Naised
Morphology	Epiteelilaadne, lame hulknurkne
Growth properties	Kinnipeetav

Product sheet

A431 rakud | 300112

Regulatiivsed andmed

Citation	A431 (Cytioni kataloginumber 300112)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0037

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed	EGFi sidumiskohad
Protein expression	P53 positiivne
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 2
Tumorigenic	Jah, immuunsupressiooniga hiirtel
Products	HBp17
Mutational profile	BRAF V600Ewt
Karyotype	Kuus marker-kromosoomi, millel on ümberkorraldused: der(6), der(7), der(17), der(21), dic(13,14) ja dic(14,18). C-MYC onkogeeni amplitatsioon 8q24 kahel markerkromosoomil: dup(8)(q24) ja der(15)t(8,15)(q22,p11).

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase

A431 rakud | 300112

Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Seeding density	1 x 10^4 rakku/cm^2 annab 4 päeva jooksul konfluentse monokihi.
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5 x $10^{4\ rakku}$/cm^2 ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

A431 rakud | 300112

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp. 4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga. 5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu. 8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.
HLA alleles	**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