

## A431-solut | 300112

## Yleisiä tietoja

## Description

A431-solulinja, joka on peräisin 85-vuotiaan naispotilaan kiinteästä epidermoidikarsinoomakasvaimesta, on ihmisen kasvainsolulinja, jolla on epiteelimorfologia ja joka kasvaa tyypillisesti klustereissa. A-431-solulinjaa hyödynnetään laajasti syöpä-, toksisuus- ja immuno-onkologisissa tutkimuksissa, ja se toimii positiivisena kontrollina epidermisen kasvutekijän (EGF) reseptorin ilmentymiselle suuren reseptoritiheydensä vuoksi.

Kun EGF sitoutuu reseptoriinsa (EGFR) A431-solujen pinnalla, tapahtuu kalvoproteiinien nopea tyrosiinifosforylaatio, joka käynnistää solunsisäisten signaalireittien kaskadin. Näihin reitteihin kuuluvat MAPK/ERK- ja PI3K/AKT-reitit, jotka ovat keskeisiä solusyklin etenemisen, eloonjäämisen ja lisääntymisen säätelyssä.

EGFR stimuloi solujen proliferaatiota pieninä pitoisuuksina, kun taas suurempina pitoisuuksina se estää kasvua ja indusoi A431-solujen terminaalista erilaistumista. Tämä dynaaminen vaste EGFR:lle korostaa solulinjan hyödyllisyyttä solujen signaalireittien ja solusyklin tutkimisessa syövän yhteydessä.

A-431-soluista peräisin olevia ksenograft-malleja käytetään kasvaimen käyttäytymisen tutkimiseen elävässä ympäristössä ja syöpähoitojen arviointiin. Näiden mallien avulla voidaan arvioida, miten hoidot, kuten EGF-lisäys ja säteily, vaikuttavat kasvaimen kasvuun, ja korostaa solujen herkkyyttä säteilylle.

Yhteenvedona voidaan todeta, että A-431-solulinja toimii korvaamattomana ihmisen epidermoidikarsinooman solumallina, joka helpottaa EGFR-signaloinnin ja kasvaimen biologian syvempää ymmärtämistä sekä sellaisten terapeuttisten toimenpiteiden kehittämistä, joilla pyritään torjumaan epidermoidikarsinoomaa ja muita siihen liittyviä syöpiä.

**Organism** Ihminen

**Tissue** Epidermoidi

**Disease** Okasolusyöpä

**Synonyms** A-431, A431/P

## Ominaisuudet

**Age** 85 vuotta

**Gender** Nainen

**Morphology** Epiteelimäinen, litteä monikulmainen

**Growth properties** Tarttuva

## A431-solut | 300112

## Säätelytiedot

<b>Citation</b>	A431 (Cytionin luettelonumero 300112)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0037

## Biomolekyyli tiedot

<b>Receptors expressed</b>	EGF-sitoutumiskohdat
<b>Protein expression</b>	P53-positiivinen
<b>Isoenzymes</b>	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 2
<b>Tumorigenic</b>	Kyllä, immunosuppressoituneissa hiirissä
<b>Products</b>	HBp17
<b>Mutational profile</b>	BRAF V600Ewt
<b>Karyotype</b>	Kuusi merkkikromosomia, joissa on uudelleenjärjestelyjä: der(6), der(7), der(17), der(21), dic(13,14) ja dic(14,18). C-MYC-onkogeenin amplifikaatio kohdassa 8q24 kahdessa merkkikromosomissa: dup(8)(q24) ja der(15)t(8,15)(q22,p11).

## Käsittely

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase

## A431-solut | 300112

**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup> tuottaa yhtenäisen yksikerroksen 4 päivän kuluessa.

**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa

**Post-Thaw Recovery** Sulattamisen jälkeen levitä solut  $5 \times 10^4$  solua/cm<sup>2</sup> ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## A431-solut | 300112

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta  $300 \times g$ :n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Ei mitään

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## A431-solut | 300112

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välvaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

### HLA-alleelit

**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