Product sheet

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 reseptoritiheytensä 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. Yhteenvetona 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

Sääntelytiedot

Citation	A431 (Cytionin luettelonumero 300112)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0037

Biomolekyylitiedot

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

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	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 tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	1 x 10^4 solua/cm^2 tuottaa yhtenäisen yksikerroksen 4 päivän kuluessa.
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10^4 solua/cm^2 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.

Thawing and Culturing Cells	1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana. 2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä. 3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle. 4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella 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 x 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 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

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

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä 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