Product sheet

A431 sejtek | 300112

Általános információk

Description	Az A431 sejtvonal, amely egy 85 éves nőbeteg szolid epidermoid karcinóma tumorából származik, egy emberi daganatos sejtvonal, amely epithelialis morfológiájú, jellemzően klaszterekben növekvő sejt. Az A-431 sejtvonalat széles körben használják rákos, toxicitási és immunonkológiai vizsgálatokban, mivel magas receptorsűrűsége miatt pozitív kontrollként szolgál az epidermális növekedési faktor (EGF) receptor expressziójának kimutatására. Az EGF-nek az A431 sejtek felszínén lévő receptorához (EGFR) való kötődését követően a membránfehérjék gyors tirozin-foszforilációja következik be, ami intracelluláris jelátviteli útvonalak kaszkádját indítja el. Ezek az útvonalak közé tartoznak a MAPK/ERK és a PI3K/AKT útvonalak, amelyek kulcsfontosságúak a sejtciklus progressziójának, túlélésének és proliferációjának szabályozásában. Az EGFR alacsony koncentrációban serkenti a sejtproliferációt, míg magasabb koncentrációban gátolja a növekedést és terminális differenciálódást indukál az A431 sejtekben. Ez az EGFR-re adott dinamikus válasz aláhúzza a sejtvonal hasznosságát a sejtek jelátviteli útvonalainak és a sejtciklusnak a rák összefüggésében történő vizsgálatában. Az A-431 sejtekből származó xenograft modelleket a daganat viselkedésének élő környezetben történő tanulmányozására és a rákellenes terápiák értékelésére használják. Ezek a modellek segítenek annak értékelésében, hogy az olyan kezelések, mint az EGF-pótlás és a sugárzás, hogyan befolyásolják a tumor növekedését, és rávilágítanak a sejtek sugárérzékenységére. Összefoglalva, az A-431 sejtvonal felbecsülhetetlen értékű humán epidermoid karcinóma sejtmodellként szolgál, elősegítve az EGFR jelátvitel, a tumorbiológia mélyebb megértését, valamint az epidermoid karcinóma és más kapcsolódó rákos megbetegedések elleni küzdelemre irányuló terápiás beavatkozások kifejlesztését.
Organism	Emberi
Tissue	Epidermoid
Disease	Laphámsejtes karcinóma
Synonyms	A-431, A431/P

Jellemzők

Age	85 év
Gender	Női
Morphology	Epithelszerű, lapos sokszögletű
Growth properties	Adherent

A431 sejtek | 300112

Szabályozási adatok

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

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed	EGF-kötőhelyek
Protein expression	P53 pozitív
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 2
Tumorigenic	Igen, immunszupprimált egerekben
Products	HBp17
Mutational profile	BRAF V600Ewt
Karyotype	Hat marker kromoszóma átrendeződéssel: der(6), der(7), der(17), der(21), dic(13,14) és dic(14,18). A C-MYC onkogén amplifikációja a 8q24-en két marker kromoszómában: dup(8)(q24) és der(15)t(8,15)(q22,p11).

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase

A431 sejtek | 300112

Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	1 x 10^4 sejt/cm^2 4 napon belül konfluens monoréteget eredményez.
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket 5 x 10^4 sejt/cm^2 sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

A431 sejtek | 300112

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.
HLA allélok	**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