Product sheet

A431 ląstelės | 300112

Bendra informacija

Description	A431 ląstelių linija, gauta iš 85 metų amžiaus pacientės epidermoidinės karcinomos naviko, yra epitelinės morfologijos žmogaus naviko ląstelių linija, paprastai auganti grupėmis. A-431 ląstelių linija plačiai naudojama vėžio, toksiškumo ir imunoonkologiniuose tyrimuose, nes dėl didelio receptorių tankio yra teigiama epidermio augimo faktoriaus (EGF) receptorių raiškos kontrolė. EGF prisijungus prie jo receptoriaus (EGFR), esančio A431 ląstelių paviršiuje, vyksta greitas membranos baltymų tirozino fosforilinimas, sukeliantis viduląstelinių signalinių kelių kaskadą. Šie keliai apima MAPK/ERK ir PI3K/AKT kelius, kurie yra svarbiausi reguliuojant ląstelių ciklo progresavimą, išgyvenamumą ir proliferaciją. EGFR stimuliuoja ląstelių proliferaciją esant mažoms koncentracijoms, o esant didesnėms koncentracijoms slopina augimą ir sukelia galutinę A431 ląstelių diferenciaciją. Šis dinamiškas atsakas į EGFR pabrėžia ląstelių linijos naudingumą tiriant ląstelių signalų kelius ir ląstelių ciklą vėžio kontekste. A-431 ląstelių ksenografų modeliai naudojami tiriant naviko elgseną gyvoje aplinkoje ir vertinant priešvėžinius gydymo būdus. Šie modeliai padeda įvertinti, kaip gydymas, pavyzdžiui, EGF papildymas ir spinduliavimas, veikia naviko augimą, ir išryškina ląstelių jautrumą spinduliavimui. Apibendrinant galima teigti, kad A-431 ląstelių linija yra neįkainojamas žmogaus epidermoidinės karcinomos ląstelių modelis, padedantis geriau suprasti EGFR signalizaciją, naviko biologiją ir kurti terapines intervencijas, skirtas kovai su epidermoidine karcinoma ir kitais susijusiais vėžiniais susirgimais.
Organism	Žmogus
Tissue	Epidermoidinis
Disease	Plokščialąstelinė karcinoma
Synonyms	A-431, A431/P

Charakteristikos

Age	85 metai
Gender	Moteris
Morphology	Epitelinės, plokščios daugiakampės formos
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

A431 ląstelės | 300112

Citation	A431 (Cytion katalogo numeris 300112)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0037

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed	EGF surišimo vietos
Protein expression	P53 teigiamas
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 2
Tumorigenic	Taip, su imunosupresinėmis pelėmis
Products	HBp17
Mutational profile	BRAF V600Ewt
Karyotype	Šešios žymėtosios chromosomos su persitvarkymais: der(6), der(7), der(17), der(21), dic(13,14) ir dic(14,18). C-MYC onkogeno amplifikacija ties 8q24 dviem žymėjimo chromosomomis: dup(8)(q24) ir der(15)t(8,15)(q22,p11).

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO3, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

A431 ląstelės | 300112

Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Seeding density	1 x 10^4 ląstelės/cm^2 per 4 dienas suformuos konfluentinį monosluoksnį.
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Post-Thaw Recovery	Atšildžius, išdėliokite ląsteles 5 x 10^4 ląstelių/cm^2 tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

A431 ląstelės | 300112

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.
HLA aleliai	**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