Product sheet

A431 šūnas | 300112

Vispārīga informācija

Description	A431 šūnu līnija, kas iegūta no 85 gadus vecas 85 gadus vecas pacientes cietas epidermoīdās karcinomas audzēja, ir cilvēka audzēja šūnu līnija ar epitēlija morfoloģiju, kas parasti aug grupās. A-431 šūnu līniju plaši izmanto vēža, toksicitātes un imūnonkoloģiskajos pētījumos, un tā kalpo kā pozitīva kontrole epidermālā augšanas faktora (EGF) receptoru ekspresijas noteikšanai, jo tajā ir augsts receptoru blīvums. Pēc EGF saistīšanās ar tā receptoru (EGFR) uz A431 šūnu virsmas notiek strauja membrānas olbaltumvielu tirozīna fosforilēšana, kas iedarbina intracelulāro signalizācijas ceļu kaskādi. Šie ceļi ietver MAPK/ERK un PI3K/AKT ceļus, kuriem ir izšķiroša nozīme šūnu cikla progresijas, izdzīvošanas un proliferācijas regulēšanā. EGFR stimulē šūnu proliferāciju zemās koncentrācijās, savukārt augstākās koncentrācijās tas kavē A431 šūnu augšanu un izraisa terminālo diferenciāciju. Šī dinamiskā reakcija uz EGFR uzsver šūnu līnijas lietderību, pētot šūnu signalizācijas ceļus un šūnu ciklu vēža kontekstā. A-431 šūnu atvasinātie ksenografta modeļi tiek izmantoti audzēja uzvedības izpētei dzīvā vidē un pretvēža terapijas novērtēšanai. Šie modeļi palīdz novērtēt, kā ārstēšana, piemēram, EGF papildināšana un apstarošana, ietekmē audzēja augšanu, un izceļ šūnu jutību pret apstarošanu. Kopumā A-431 šūnu līnija kalpo kā nenovērtējams cilvēka epidermoīdā karcinoma šūnu modelis, kas veicina dziļāku izpratni par EGFR signalizāciju, audzēju bioloģiju un terapeitisko pasākumu izstrādi, lai cīnītos ar epidermoīdā karcinomu un citiem radniecīgiem vēža veidiem.
Organism	Cilvēks
Tissue	Epidermoīdā
Disease	Plakanšūnu karcinoma
Synonyms	A-431, A431/P

Raksturojums

Age	85 gadi
Gender	Sievietes
Morphology	Epitēlijveidīgs, plakans daudzstūrains
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

A431 šūnas | 300112

Citation	A431 (Cytion kataloga numurs 300112)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0037

Biomolekulārie dati

Receptors expressed	EGF saistošās vietas
Protein expression	P53 pozitīvs
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 2
Tumorigenic	Jā, imunosupresētām pelēm
Products	HBp17
Mutational profile	BRAF V600Ewt
Karyotype	Sešas marķieru hromosomas ar pārkārtojumiem: der(6), der(7), der(17), der(21), dic(13,14) un dic(14,18). C-MYC onkogēna amplifikācija 8q24 divās marķieru hromosomās: dup(8)(q24) un der(15)t(8,15)(q22,p11).

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

A431 šūnas | 300112

Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Seeding density	1 x 10^4 šūnas/cm^2 4 dienu laikā izveidosies konfluents monoslānis.
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Post-Thaw Recovery	Pēc atkausēšanas izkliedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5 x 10^4 šūnas/cm^2 un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

A431 šūnas | 300112

Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

A431 šūnas | 300112

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.
HLA alēles	**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