

Komórki A431 | 300112**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa A431, pochodząca z litego guza raka naskórka u 85-letniej pacjentki, jest ludzką linią komórek nowotworowych o morfologii nabłonkowej, zwykle rosnącą w skupiskach. Linia komórkowa A-431 jest szeroko wykorzystywana w badaniach nad rakiem, toksycznością i immuno-onkologią, służąc jako pozytywna kontrola ekspresji receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGF) ze względu na wysoką gęstość receptora.

Po związaniu EGF z jego receptorem (EGFR) na powierzchni komórek A431 dochodzi do szybkiej fosforylacji tyrozyny białek błonowych, wyzwalając kaskadę wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych. Szlaki te obejmują szlaki MAPK/ERK i PI3K/AKT, które odgrywają kluczową rolę w regulacji progresji cyklu komórkowego, przeżycia i proliferacji.

EGFR stymuluje proliferację komórek w niskich stężeniach, podczas gdy w wyższych stężeniach hamuje wzrost i indukuje końcowe różnicowanie w komórkach A431. Ta dynamiczna odpowiedź na EGFR podkreśla użyteczność linii komórkowej w badaniu szlaków sygnalizacji komórkowej i cyklu komórkowego w kontekście raka.

Modele ksenoprzeszczepów pochodzące z komórek A-431 są wykorzystywane do badania zachowania nowotworu w żywym środowisku i oceny terapii przeciwnowotworowych. Modele te pomagają ocenić, w jaki sposób terapie, takie jak suplementacja EGF i promieniowanie, wpływają na wzrost guza i podkreślają wrażliwość komórek na promieniowanie.

Podsumowując, linia komórkowa A-431 służy jako nieoceniony model komórkowy ludzkiego raka naskórka, ułatwiając głębsze zrozumienie sygnalizacji EGFR, biologii nowotworów i rozwój interwencji terapeutycznych mających na celu zwalczanie raka naskórka i innych powiązanych nowotworów.

Organism Człowiek**Tissue** Epidermoid**Disease** Rak płaskonabłonkowy**Synonyms** A-431, A431/P**Charakterystyka****Age** 85 lat**Gender** Kobieta**Morphology** Nabłonkowe, płaskie, wielokątne**Growth properties** Adherent

Komórki A431 | 300112**Dane regulacyjne**

Citation	A431 (numer katalogowy Cytion 300112)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0037

Dane biomolekularne

Receptors expressed	Miejsca wiążące EGF
Protein expression	P53 dodatni
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 2
Tumorigenic	Tak, u myszy z obniżoną odpornością
Products	HBp17
Mutational profile	BRAF V600Ewt
Karyotype	Sześć chromosomów markerowych z rearanżacjami: der(6), der(7), der(17), der(21), dic(13,14) i dic(14,18). Amplifikacja onkogenu C-MYC w 8q24 w dwóch chromosomach markerowych: dup(8)(q24) i der(15)t(8,15)(q22,p11).

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Komórki A431 | 300112

Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecane są proporcje od 1:3 do 1:8
Seeding density	1×10^4 komórek/cm ² spowoduje powstanie zlewającej się monowarstwy w ciągu 4 dni.
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm ² i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przyłączyć do podłoża.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki A431 | 300112

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki A431 | 300112**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11,12
D13S317: 9,13
D16S539: 12,14
D5S818: 12,13
D7S820: 10
TH01: 9
TPOX: 11
vWA: 15,17
D3S1358: 14
D21S11: 28,3

Allele HLA

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