Product sheet

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 immunoonkologią, 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

Product sheet

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 NaHCO3, 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. Odrzucić 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 x 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 x 10^4 komórek/cm^2 i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć 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 przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x 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 zawiesinowych, 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% $_{CO2}$, 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 cały 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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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 i analiza molekularna

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