Product sheet

Bunky A431 | 300112

Všeobecné informácie

Description	Bunková línia A431, odvodená zo solídneho nádoru epidermoidného karcinómu u 85-ročnej pacientky, je ľudská nádorová bunková línia s epitelovou morfológiou, ktorá zvyčajne rastie v zhlukoch. Bunková línia A-431 sa vo veľkej miere využíva v štúdiách rakoviny, toxicity a imunoonkologických štúdiách a slúži ako pozitívna kontrola expresie receptora epidermálneho rastového faktora (EGF) vďaka vysokej hustote receptorov. Po naviazaní EGF na jeho receptor (EGFR) na povrchu buniek A431 dochádza k rýchlej tyrozínovej fosforylácii membránových proteínov, ktorá spúšťa kaskádu vnútrobunkových signálnych dráh. Tieto dráhy zahŕňajú dráhy MAPK/ERK a PI3K/AKT, ktoré sú kľúčové pri regulácii progresie bunkového cyklu, prežívania a proliferácie. EGFR pri nízkych koncentráciách stimuluje proliferáciu buniek, zatiaľ čo pri vyšších koncentráciách inhibuje rast a indukuje terminálnu diferenciáciu buniek A431. Táto dynamická reakcia na EGFR zdôrazňuje užitočnosť bunkovej línie pri skúmaní bunkových signálnych dráh a bunkového cyklu v kontexte rakoviny. Xenotransplantačné modely odvodené od buniek A-431 sa používajú na štúdium správania nádorov v živom prostredí a na hodnotenie protinádorových terapií. Tieto modely pomáhajú posúdiť, ako liečba, ako je napríklad suplementácia EGF a ožarovanie, ovplyvňuje rast nádoru a zdôrazňuje citlivosť buniek na ožarovanie. Celkovo možno konštatovať, že bunková línia A-431 slúži ako neoceniteľný bunkový model ľudského epidermoidného karcinómu, ktorý uľahčuje hlbšie pochopenie signalizácie EGFR, biológie nádorov a vývoj terapeutických zásahov zameraných na boj proti epidermoidnému karcinómu a iným príbuzným druhom rakoviny.
Organism	Ľudské
Tissue	Epidermoid
Disease	Spinocelulárny karcinóm
Synonyms	A-431, A431/P

Charakteristika

Age	85 rokov
Gender	Ženy
Morphology	Epitelový, plochý polygonálny
Growth properties	Adherent

Regulačné údaje

Bunky A431 | 300112

Citation	A431 (katalógové číslo Cytion 300112)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0037

Biomolekulárne údaje

Receptors expressed	Miesta viažuce EGF
Protein expression	P53 pozitívny
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 2
Tumorigenic	Áno, u imunosuprimovaných myší
Products	HBp17
Mutational profile	BRAF V600Ewt
Karyotype	Šesť markerových chromozómov s prestavbami: der(6), der(7), der(17), der(21), dic(13,14) a dic(14,18). Amplifikácia onkogénu C-MYC na 8q24 v dvoch markerových chromozómoch: dup(8)(q24) a der(15)t(8,15)(q22,p11).

Spracovanie

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Bunky A431 | 300112

Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstreďujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
Seeding density	1 x 10^4 buniek/cm^2 bude mať za následok konfluentnú monovrstvu do 4 dní.
Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5 x 10^4 buniek/cm^2 a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Bunky A431 | 300112

Thawing and Culturing Cells	1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota. 2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia. 3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč. 4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom. 5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte. 6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média. 7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek. 8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žiadne
Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.
Alely 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