Product sheet

A431 Клітини | 300112

Загальна інформація

Description	Клітинна лінія A431, отримана з солідної пухлини епідермоїдної карциноми у 85-річної пацієнтки, є пухлинною лінією клітин людини з епітеліальною морфологією, яка зазвичай росте кластерами. Клітинна лінія A-431 широко використовується в дослідженнях раку, токсичності та імуноонкології, слугуючи позитивним контролем для експресії рецепторів епідермального фактору росту (EGF) завдяки своїй високій щільності рецепторів. Після зв'язування EGF з його рецептором (EGFR) на поверхні клітин A431 відбувається швидке тирозинове фосфорилювання мембранних білків, що запускає каскад внутрішньоклітинних сигнальних шляхів. Ці шляхи включають MAPK/ERK та PI3K/AKT, які відіграють ключову роль у регуляції прогресії клітинного циклу, виживання та проліферації. У низьких концентраціях EGFR стимулює проліферацію клітин, тоді як у вищих концентраціях він пригнічує ріст та індукує термінальну диференціацію клітин A431. Така динамічна відповідь на EGFR підкреслює корисність клітинної лінії для дослідження клітинних сигнальних шляхів і клітинного циклу в контексті раку. Моделі ксенотрансплантатів, отриманих з клітин A-431, використовуються для вивчення поведінки пухлин у живому середовищі та оцінки протипухлинної терапії. Ці моделі допомагають оцінити, як такі методи лікування, як додавання EGF та опромінення, впливають на ріст пухлини та висвітлюють чутливість клітин до радіації. Таким чином, клітинна лінія A-431 слугує безцінною клітинною моделлю епідермоїдної карциноми людини, сприяючи глибшому розумінню сигналізації EGFR, біології пухлин та розробці терапевтичних втручань, спрямованих на боротьбу з епідермоїдною карциномою та іншими спорідненими видами раку.
Organism	Людина
Tissue	Епідермоїдний
Disease	Плоскоклітинний рак
Synonyms	A-431, A431/P

Характеристики

Age	85 років
Gender	Жінка
Morphology	Епітеліальноподібні, плоскі полігональні
Growth properties	Адепт

Product sheet

A431 Клітини | 300112

Нормативні дані

Citation	A431 (номер за каталогом Cytion 300112)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0037

Біомолекулярні дані

Receptors expressed	EGF-зв'язуючі сайти
Protein expression	P53 позитивний
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 2
Tumorigenic	Так, у мишей з пригніченим імунітетом
Products	HBp17
Mutational profile	BRAF V600Ewt
Karyotype	Шість маркерних хромосом з перебудовами: der(6), der(7), der(17), der(21), dic(13,14) та dic(14,18). Ампліфікація онкогена C-MYC в 8q24 у двох маркерних хромосомах: dup(8)(q24) та der(15)t(8,15)(q22,p11).

Обробка

Culture Medium	ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза

A431 Клітини | 300112

Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Seeding density	1 x 10^4 клітин/$см^2$ призведе до утворення конфлюентного моношару протягом 4 днів.
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Post-Thaw Recovery	Після розморожування висійте клітини з щільністю 5 x 10^4 клітин/^{см2} і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

A431 Клітини | 300112

Thawing and Culturing Cells	1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування. 2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування. 3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка. 4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям. 5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи. 6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища. 7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин. 8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні
Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

A431 Клітини | 300112

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.
HLA алелі	**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