

Клетки A375 | 300110

Обща информация

Description

Клетъчната линия A375 на човешки меланом, изолирана от кожата на 54-годишна пациентка с малигнен меланом, е важен ресурс в изследванията на рака, особено в проучването на човешкия меланом, една от най-агресивните форми на рак на кожата. Клетъчната линия A375 е известна с бързия си растеж и високия си туморогенен потенциал, което я прави подходяща за различни експериментални приложения, включително *in vitro* изследвания на клетъчната пролиферация, миграция и инвазия, както и *in vivo* тестове за туморогенеза.

Клетките A375 проявяват висок туморогенен потенциал при имunosупресирани мишки, като образуват бързо растящи амеланотични меланоми. Наличието на мутацията BRAFV600E в клетките A375 ги прави силно чувствителни към инхибиране на MEK, което ги прави ценен инструмент за изследване на целеви терапии при лечението на меланом. Лечението на клетки A375 с вемурафениб, например, е показало, че усилва индукцията на молекули MHC клас I и клас II, което дава представа за взаимодействията между меланомните клетки и имунната система.

В допълнение към ролята си в основните изследвания на меланом, A375 клетките се използват при скрининг на лекарства и при изследване на сигналните пътища, участващи в оцеляването, пролиферацията и метастазирането на раковите клетки. Клетките A375 са използвани и в проучвания на апоптозата, а изогенните клетъчни линии A375 и въвеждането на репортерни протеини като Luc (luc2) позволяват проучването на генната функция и наблюдението на клетъчните реакции в реално време. Пригодността на клетките A375 като трансфекционен гостоприемник и тяхното използване в стабилни репортерни клетъчни линии също допринасят за тяхната гъвкавост в изследователски приложения.

В обобщение, човешката меланомна клетъчна линия A375 е ключов инструмент в изследването на човешкия меланом, предлагайки цялостен модел за изучаване на молекулярните и клетъчните механизми, лежащи в основата на прогресията на меланом, ефикасността на терапевтичните средства и взаимодействието между раковите клетки и имунната система.

Organism Човек

Tissue Кожа

Disease Меланом

Synonyms A 375, A-375, A375-MEL, A375-mel, A375mel

Характеристики

Age 54 години

Gender Жена

Morphology Подобни на епител

Клетки A375 | 300110

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation A375 (каталожен номер 300110 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0132

Биомолекулярни данни

Antigen expression P53 положителен

Tumorigenic Да, при голи мишки

Mutational profile BRAF V600Emut

Karyotype Клетките A375 се характеризират с хипотриплоиден кариотип с модален брой хромозоми 62 и наличие на девет маркерни хромозоми във всяка клетка, което подчертава генетичните промени, свързани с малигнен меланом.

Работа с

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 20 часа

Клетки A375 | 300110

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1×10^4 клетки/cm ² ще доведе до конфлуентен монослой в рамките на 4 дни.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, разположете клетките на 4×10^4 клетки/cm ² и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки A375 | 300110

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки A375 | 300110

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

A*: '01:01:01, '02:01:01
B*: '44:03:01, '57:01:01
C*: '06:02:01, '16:01:01
DRB1*: '04:05:01, '07:01:01
DQA1*: '02:01:01, '03:03:01
DQB1*: '03:02:01, '03:03:02
DPB1*: '04:01:01
E: '01:01:01, '01:03