Product sheet

Buňky A375 | 300110

Obecné informace

Description	Lidská melanomová buněčná linie A375, izolovaná z kůže 54leté pacientky s maligním melanomem, je významným zdrojem pro výzkum rakoviny, zejména pro studium lidského melanomu, jedné z nejagresivnějších forem rakoviny kůže. Buněčná linie A375 je známá svou rychlou rychlostí růstu a vysokým tumorigenním potenciálem, díky čemuž je vhodná pro různé experimentální aplikace, včetně in vitro studií buněčné proliferace, migrace a invaze, jakož i in vivo testů tumorigenese. Buňky A375 vykazují vysoký tumorigenní potenciál u imunokompromitovaných myší, kde tvoří rychle rostoucí amelanotické melanomy. Přítomnost mutace BRAFV600E v buňkách A375 je činí vysoce citlivými na inhibici MEK, což je cenným nástrojem pro výzkum cílených terapií v léčbě melanomu. Bylo například prokázáno, že léčba buněk A375 vemurafenibem zvyšuje indukci molekul MHC třídy I a třídy II, což poskytuje vhled do interakcí mezi buňkami melanomu a imunitním systémem. Kromě své role v základním výzkumu melanomu se buňky A375 používají při screeningu léčiv a při zkoumání signálních drah podílejících se na přežití, proliferaci a metastázování rakovinných buněk. Buňky A375 byly dále využity ve studiích apoptózy a izogenní buněčné linie A375 a zavedení reportérových proteinů, jako je Luc (luc2), umožňují studium funkce genů a monitorování buněčných reakcí v reálném čase. Vhodnost buněk A375 jako hostitelů transfekce a jejich použití ve stabilních reportérových buněčných liniích také přispívá k jejich všestrannosti ve výzkumných aplikacích. Souhrnně lze říci, že lidská melanomová buněčná linie A375 je klíčovým nástrojem ve výzkumu lidského melanomu a nabízí komplexní model pro studium molekulárních a buněčných mechanismů, které jsou základem progrese melanomu, účinnosti terapeutických látek a interakce mezi rakovinnými buňkami a imunitním systémem.
Organism	Člověk
Tissue	Kůže
Disease	Melanom
Synonyms	A 375, A-375, A375-MEL, A375-mel, A375mel

Charakteristika

Age	54 let
Gender	Ženy
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Adherentní

Buňky A375 | 300110

Regulační údaje

Citation	A375 (katalogové číslo Cytion 300110)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0132

Biomolekulární data

Antigen expression	P53 pozitivní
Tumorigenic	Ano, u nahých myší
Mutational profile	BRAF V600Emut
Karyotype	Buňky A375 se vyznačují hypotriploidním karyotypem s modálním počtem chromozomů 62 a přítomností devíti markerových chromozomů v každé buňce, což poukazuje na genetické změny spojené s maligním melanomem.

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, 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
Doubling time	20 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Buňky A375 | 300110

Split ratio	Doporučuje se poměr 1:3 až 1:8
Seeding density	1 x 10^4 buněk/cm^2 vytvoří konfluentní monovrstvu během 4 dnů.
Fluid renewal	2 až 3krát týdně
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky v množství 4 x 10^4 buněk/cm^2 a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Buňky A375 | 300110

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 %$_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.
Profil STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 11,12 **D13S317**: 11,14 **D16S539**: 9 **D5S818**: 12 **D7S820**: 9 **TH01**: 8 **TPOX**: 8,1

Buňky A375 | 300110

Alely HLA	**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