

A375-celler | 300110

Generel information

Description

Den humane melanomcellelinje A375, der er isoleret fra huden på en 54-årig kvindelig patient med malignt melanom, er en vigtig ressource i kræftforskningen, især i studiet af humant melanom, en af de mest aggressive former for hudkræft. A375-cellelinjen er kendt for sin hurtige væksthastighed og høje tumorigeniske potentiale, hvilket gør den velegnet til forskellige eksperimentelle anvendelser, herunder in vitro-undersøgelser af celleproliferation, migration og invasion samt in vivo-tumorigeneseassays.

A375-celler udviser et højt tumorigenisk potentiale i immunsupprimerede mus, hvor de danner hurtigt voksende amelanotiske melanomer. Tilstedeværelsen af BRAFV600E-mutationen i A375-celler gør dem meget følsomme over for MEK-hæmning, hvilket giver et værdifuldt redskab til undersøgelse af målrettede terapier i behandlingen af melanom. Behandling af A375-celler med vemurafenib har for eksempel vist sig at øge induktionen af MHC klasse I- og klasse II-molekyler, hvilket giver indsigt i interaktionerne mellem melanomceller og immunsystemet.

Ud over deres rolle i grundlæggende melanomforskning anvendes A375-celler til lægemiddelscreening og til undersøgelse af signalveje, der er involveret i kræftcellers overlevelse, proliferation og metastase. A375-celler er desuden blevet anvendt i apoptoseundersøgelser, og A375-isogene cellelinjer og introduktionen af reporterproteiner som Luc (luc2) gør det muligt at undersøge genfunktion og overvåge cellulære responser i realtid. A375-cellers egnethed som transfektionsvært og deres anvendelse i stabile reportercellelinjer bidrager også til deres alsidighed i forskningsanvendelser.

Sammenfattende er den humane melanomcellelinje A375 et centralt redskab i undersøgelsen af humant melanom, da den tilbyder en omfattende model til undersøgelse af de molekylære og cellulære mekanismer, der ligger til grund for melanomprogression, effektiviteten af terapeutiske midler og interaktionen mellem kræftceller og immunsystemet.

Organism Menneske

Tissue Hud

Disease Modermærkekræft

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

Karakteristika

Age 54 år

Gender Kvinde

Morphology Epitel-lignende

Growth properties Vedhæftende

A375-celler | 300110

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

Antigen expression	P53-positiv
Tumorigenic	Yeess, i nøgne mus
Mutational profile	BRAF V600Emut
Karyotype	A375-celler er kendetegnet ved deres hypotripløide karyotype med et modalt kromosomtallet på 62 og tilstedeværelsen af ni markørkromosomer i hver celle, hvilket fremhæver de genetiske ændringer, der er forbundet med malignt melanom.

Håndtering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20 timer
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

A375-celler | 300110

Seeding density 1×10^4 celler/cm² vil resultere i et sammenhængende monolag inden for 4 dage.

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

Post-Thaw Recovery Efter optøning skal cellerne udplades med 4×10^4 celler/cm², og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.

Freeze medium Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, befugtet atmosfære.

A375-celler | 300110

Flask Coating Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

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