

## A375-Zellen | 300110

### Allgemeine Informationen

#### Description

Die menschliche Melanomzelllinie A375, die aus der Haut einer 54-jährigen Patientin mit malignem Melanom isoliert wurde, ist eine wichtige Ressource in der Krebsforschung, insbesondere bei der Untersuchung des menschlichen Melanoms, einer der aggressivsten Formen von Hautkrebs. Die A375-Zelllinie ist bekannt für ihr schnelles Wachstum und ihr hohes tumorogenes Potenzial, wodurch sie sich für verschiedene experimentelle Anwendungen eignet, darunter In-vitro-Studien zur Zellproliferation, Migration und Invasion sowie In-vivo-Tumorigenese-Assays.

A375-Zellen weisen ein hohes tumorogenes Potenzial in immunsupprimierten Mäusen auf und bilden schnell wachsende amelanotische Melanome. Das Vorhandensein der BRAFV600E-Mutation in A375-Zellen macht sie sehr empfindlich gegenüber einer MEK-Hemmung und bietet somit ein wertvolles Instrument für die Erforschung gezielter Therapien zur Behandlung von Melanomen. Die Behandlung von A375-Zellen mit Vemurafenib beispielsweise hat gezeigt, dass sie die Induktion von MHC-Klasse-I- und Klasse-II-Molekülen verstärkt und somit Einblicke in die Wechselwirkungen zwischen Melanomzellen und dem Immunsystem bietet.

Zusätzlich zu ihrer Rolle in der Grundlagenforschung zu Melanomen werden A375-Zellen beim Wirkstoffscreening und bei der Untersuchung von Signalwegen verwendet, die an der Überlebensfähigkeit, Proliferation und Metastasierung von Krebszellen beteiligt sind. A375-Zellen wurden darüber hinaus in Apoptose-Studien verwendet, und A375-isogene Zelllinien sowie die Einführung von Reporterproteinen wie Luc (luc2) ermöglichen die Untersuchung der Genfunktion und die Überwachung von Zellreaktionen in Echtzeit. Die Eignung von A375-Zellen als Transfektionswirte und ihre Verwendung in stabilen Reporterzelllinien tragen ebenfalls zu ihrer Vielseitigkeit in Forschungsanwendungen bei.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die humane Melanomzelllinie A375 ein zentrales Instrument bei der Erforschung des humanen Melanoms ist und ein umfassendes Modell für die Untersuchung der molekularen und zellulären Mechanismen bietet, die der Progression des Melanoms zugrunde liegen, sowie für die Wirksamkeit von Therapeutika und die Interaktion zwischen Krebszellen und dem Immunsystem.

**Organism** Menschen

**Tissue** Haut

**Disease** Melanom

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

### Merkmale

**Age** 54 Jahre

**Gender** Weiblich

**Morphology** Epithelähnlich

## A375-Zellen | 300110

**Growth properties** Adhärenz

## Regulatorische Daten

**Citation** A375 (Cytion Katalognummer 300110)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0132

## Biomolekulare Daten

**Antigen expression** P53 positiv

**Tumorigenic** Ja, in Nacktmäusen

**Mutational profile** BRAF V600Emut

**Karyotype** A375-Zellen zeichnen sich durch ihren hypotriploiden Karyotyp mit einer modalen Chromosomenzahl von 62 und das Vorhandensein von neun Markerchromosomen in jeder Zelle aus, was die mit dem malignen Melanom verbundenen genetischen Veränderungen verdeutlicht.

## Handhabung

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 20 Stunden

## A375-Zellen | 300110

|                           |  |
|---------------------------|--|
| <b>Subculturing</b>       | Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenen Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten. |
| <b>Split ratio</b>        | Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:3 bis 1:8  |
| <b>Seeding density</b>    | $1 \times 10^4$ Zellen/cm <sup>2</sup> führen innerhalb von 4 Tagen zu einer konfluenten Monoschicht.  |
| <b>Fluid renewal</b>      | 2 bis 3 Mal pro Woche  |
| <b>Post-Thaw Recovery</b> | Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von $4 \times 10^4$ Zellen/cm <sup>2</sup> ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhären lassen.  |
| <b>Freeze medium</b>      | Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.  |

## A375-Zellen | 300110

### Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein  $37^{\circ}\text{C}$  warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei  $300 \times g$ , um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befeuchtete Atmosphäre.

### Flask Coating

Um eine optimale Anheftung und Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten, empfehlen wir die Verwendung von **kollagenbeschichteten Flaschen oder Platten**.

### Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

## A375-Zellen | 300110

### Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

### Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

## Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

### Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

### STR-Profil

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 11,12  
**D13S317:** 11,14  
**D16S539:** 9  
**D5S818:** 12  
**D7S820:** 9  
**TH01:** 8  
**TPOX:** 8,1

### HLA-Allele

**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