

Κύτταρα A375 | 300110

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά A375 ανθρώπινου μελανώματος, που απομονώθηκε από το δέρμα μιας 54χρονης γυναίκας με κακοήθες μελάνωμα, αποτελεί σημαντικό πόρο στην έρευνα για τον καρκίνο, ιδιαίτερα στη μελέτη του ανθρώπινου μελανώματος, μιας από τις πιο επιθετικές μορφές καρκίνου του δέρματος. Η κυτταρική σειρά A375 είναι γνωστή για τον γρήγορο ρυθμό ανάπτυξής της και το υψηλό ογκογόνο δυναμικό της, γεγονός που την καθιστά κατάλληλη για διάφορες πειραματικές εφαρμογές, συμπεριλαμβανομένων των in vitro μελετών για τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την εισβολή των κυττάρων, καθώς και των in vivo δοκιμασιών ογκογένεσης.

Τα κύτταρα A375 εμφανίζουν υψηλό ογκογόνο δυναμικό σε ανοσοκατεσταλμένα ποντίκια, σχηματίζοντας ταχέως αναπτυσσόμενα αμελανωτικά μελάνωματα. Η παρουσία της μετάλλαξης BRAFV600E στα κύτταρα A375 τα καθιστά ιδιαίτερα ευαίσθητα στην αναστολή του MEK, παρέχοντας ένα πολύτιμο εργαλείο για τη διερεύνηση στοχευμένων θεραπειών στη θεραπεία του μελανώματος. Η θεραπεία των κυττάρων A375 με vemurafenib, για παράδειγμα, έχει αποδειχθεί ότι ενισχύει την επαγωγή μορίων MHC Class I και Class II, προσφέροντας πληροφορίες για τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυττάρων του μελανώματος και του ανοσοποιητικού συστήματος.

Εκτός από τον ρόλο τους στη βασική έρευνα για το μελάνωμα, τα κύτταρα A375 χρησιμοποιούνται στην ανίχνευση φαρμάκων και στη διερεύνηση των σηματοδοτικών οδών που εμπλέκονται στην επιβίωση, τον πολλαπλασιασμό και τη μετάσταση των καρκινικών κυττάρων. Τα κύτταρα A375 έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί σε μελέτες απόπτωσης και οι ισογενείς κυτταρικές σειρές A375 και η εισαγωγή πρωτεϊνών αναφοράς όπως η Luc (luc2) επιτρέπουν τη μελέτη της λειτουργίας των γονιδίων και την παρακολούθηση των κυτταρικών αποκρίσεων σε πραγματικό χρόνο. Η καταλληλότητα των κυττάρων A375 ως ξενιστών μεταφοράς και η χρήση τους σε σταθερές κυτταρικές σειρές αναφοράς συμβάλλουν επίσης στην ευελιξία τους σε ερευνητικές εφαρμογές.

Συνοψίζοντας, η ανθρώπινη κυτταρική σειρά μελανώματος A375 αποτελεί βασικό εργαλείο στη διερεύνηση του ανθρώπινου μελανώματος, προσφέροντας ένα ολοκληρωμένο μοντέλο για τη μελέτη των μοριακών και κυτταρικών μηχανισμών που υποκείμενα στην εξέλιξη του μελανώματος, της αποτελεσματικότητας των θεραπευτικών παραγόντων και της αλληλεπίδρασης μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και του ανοσοποιητικού συστήματος.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Δέρμα

Disease Μελάνωμα

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

Χαρακτηριστικά

Age 54 χρόνια

Gender Γυναίκα

Κύτταρα A375 | 300110

Morphology Επιθηλιοειδής

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation A375 (αριθμός καταλόγου Cytion 300110)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0132

Βιομοριακά δεδομένα

Antigen expression P53 θετικό

Tumorigenic Ναι, σε γυμνά ποντίκια

Mutational profile BRAF V600Emut

Karyotype Τα κύτταρα A375 χαρακτηρίζονται από τον υποτριπλοειδή καρυότυπό τους, με μέσο αριθμό χρωμοσωμάτων 62, και την παρουσία εννέα χρωμοσωμάτων-δεικτών σε κάθε κύτταρο, αναδεικνύοντας τις γενετικές μεταβολές που σχετίζονται με το κακοήθες μελάνωμα.

Χειρισμός

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM πυρροβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 20 ώρες

Κύτταρα A375 | 300110

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Seeding density 1×10^4 κύτταρα/cm² θα οδηγήσουν σε συγχωνευμένη μονοστρωματική κυτταρική καλλιέργεια εντός 4 ημερών.

Fluid renewal 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Post-Thaw Recovery Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 4×10^4 κύτταρα/cm² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα A375 | 300110**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα A375 | 300110**Shipping Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA**Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

HLA αλληλόμορφα

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