Product sheet

A375 sejtek | 300110

Általános információk

Description	Az A375 humán melanoma sejtvonal, amelyet egy 54 éves, rosszindulatú melanoma-ban szenvedő női beteg bőréből izoláltak, jelentős forrás a rákkutatásban, különösen a humán melanoma, az egyik legagresszívebb bőrrákforma tanulmányozásában. Az A375 sejtvonal gyors növekedési sebességéről és magas tumorigenikus potenciáljáról ismert, ami alkalmassá teszi különböző kísérleti alkalmazásokra, beleértve a sejtek proliferációjának, migrációjának és inváziójának in vitro vizsgálatát, valamint az in vivo tumorigenesis vizsgálatokat. Az A375 sejtek immunszuppresszált egerekben magas tumorigenikus potenciállal rendelkeznek, gyorsan növekvő amelanotikus melanómákat képezve. A BRAFV600E mutáció jelenléte az A375 sejtekben rendkívül érzékennyé teszi őket a MEK gátlásra, ami értékes eszköz a melanoma kezelésében alkalmazott célzott terápiák kutatásához. Például kimutatták, hogy az A375 sejtek vemurafenibbal történő kezelése fokozza az MHC I. és II. osztályú molekulák indukcióját, ami betekintést nyújt a melanoma sejtek és az immunrendszer közötti kölcsönhatásokba. Az A375 sejtek az alapvető melanoma kutatásban betöltött szerepükön túl gyógyszer szűrésben és a ráksejtek túlélésében, szaporodásában és metasztázisában részt vevő jelátviteli útvonalak vizsgálatában is felhasználásra kerülnek. Az A375 sejteket továbbá apoptózis-vizsgálatokban és A375 izogén sejtvonalakban is felhasználják, és a Luc (luc2) típusú riporterfehérjék bevezetése lehetővé teszi a génfunkciók vizsgálatát és a sejtek reakcióinak valós idejű monitorozását. Az A375 sejtek transzfekciós gazdaszervezetként való alkalmassága és stabil riporter sejtvonalakban való felhasználása szintén hozzájárul sokoldalúságukhoz a kutatási alkalmazásokban. Összefoglalva, az A375 humán melanoma sejtvonal kulcsfontosságú eszköz a humán melanoma vizsgálatában, átfogó modellt kínálva a melanoma progressziójának molekuláris és sejtes mechanizmusainak, a terápiás szerek hatékonyságának, valamint a ráksejtek és az immunrendszer közötti interakciók tanulmányozásához.
Organism	Emberi
Tissue	Bőr
Disease	Melanoma
Synonyms	A 375, A-375, A375-MEL, A375-mel, A375-mel, A375mel

Jellemzők

Age	54 év
Gender	Női
Morphology	Epithelszerű
Growth properties	Adherent

Product sheet

A375 sejtek | 300110

Szabályozási adatok

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

Biomolekuláris adatok

Antigen expression	P53 pozitív
Tumorigenic	Igen, meztelen egerekben
Mutational profile	BRAF V600Emut
Karyotype	Az A375 sejteket hipotriploid kariotípus jellemzi, a kromoszómák száma 62, és minden egyes sejtben kilenc marker kromoszóma van jelen, ami kiemeli a malignus melanomához társuló genetikai elváltozásokat.

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20 óra
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

A375 sejtek | 300110

Seeding density	1 x 10^4 sejt/cm^2 4 napon belül konfluens monoréteget eredményez.
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket 4 x 10^4 sejt/cm^2 sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felépüljenek a fagyasztási folyamatból, és legalább 24 órán át tapadjanak.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.

A375 sejtek | 300110

Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.
HLA allélok	**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