

## A375 sejtek | 300110

## Általános információk

## Description

Az A375 humán melanoma sejtvonala, amelyet egy 54 éves, rosszindulatú melanoma-betegségben szenvedő nő bőréből izoláltak, jelentős forrás a rákkutatásban, különösen a humán melanoma, az egyik legagresszívabb bőrrákfajta tanulmányozásában. Az A375 sejtvonala 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 sejtvonala 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

## A375 sejtek | 300110

## Szabályozási adatok

<b>Citation</b>	A375 (Cytion katalógusszám: 300110)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0132

## Biomolekuláris adatok

<b>Antigen expression</b>	P53 pozitív
<b>Tumorigenic</b>	Igen, meztelen egerekben
<b>Mutational profile</b>	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

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
<b>Supplements</b>	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	20 óra
<b>Subculturing</b>	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**  $1 \times 10^4$  sejt/cm<sup>2</sup> 4 napon belül konfluens monoréteget eredményez.

**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal

**Post-Thaw Recovery** Felolvasztás után helyezze a sejteket  $4 \times 10^4$  sejt/cm<sup>2</sup> 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 krioüklét 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 sejt pelletet 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 sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, párasított légkör.

## A375 sejtek | 300110

### Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

### Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakot szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

### Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakot szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  közötti hőmérsékleten. A  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatói módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat 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