Product sheet

A375 ląstelės | 300110

Bendra informacija

Description	A375 žmogaus melanomos ląstelių linija, izoliuota iš 54 metų moters, sergančios piktybine melanoma, odos, yra svarbus išteklius vėžio tyrimuose, ypač žmogaus melanomos, vienos iš agresyviausių odos vėžio formų, tyrimuose. A375 ląstelių linija yra žinoma dėl savo greito augimo tempo ir didelio tumorigeninio potencialo, todėl ji tinka įvairiems eksperimentiniams taikymams, įskaitant in vitro tyrimus dėl ląstelių proliferacijos, migracijos ir invazijos, taip pat in vivo tumorigencijos tyrimus. A375 ląstelės pasižymi dideliu tumorigeniniu potencialu imuninės sistemos slopintose pelėse, formuodamos greitai augančias amelanotines melanomas. BRAFV600E mutacijos buvimas A375 ląstelėse daro jas labai jautrias MEK inhibicijai, todėl jos yra vertinga priemonė tirti tikslinį melanomos gydymą. Pavyzdžiui, buvo įrodyta, kad A375 ląstelių gydymas vemurafenibu sustiprina MHC I ir II klasės molekulių indukciją, suteikdamas įžvalgų apie melanomos ląstelių ir imuninės sistemos sąveiką. Be savo vaidmens pagrindiniuose melanomos tyrimuose, A375 ląstelės naudojamos vaistų atrankai ir signalinių kelių, susijusių su vėžinių ląstelių išlikimu, proliferacija ir metastazavimu, tyrimams. A375 ląstelės taip pat naudojamos apoptozės tyrimuose, o A375 izogeninės ląstelių linijos ir reporterinių baltymų, pvz., Luc (luc2), įvedimas leidžia tirti genų funkcijas ir stebėti ląstelių reakcijas realiuoju laiku. A375 ląstelių tinkamumas kaip transfekcijos šeimininkės ir jų naudojimas stabiliose reporterinėse ląstelių linijose taip pat prisideda prie jų universalumo moksliniuose tyrimuose. Apibendrinant, A375 žmogaus melanomos ląstelių linija yra pagrindinė priemonė žmogaus melanomos tyrimuose, siūlanti išsamų modelį melanomos progresavimo molekulinės ir ląstelių mechanizmų, terapinių agentų veiksmingumo ir vėžio ląstelių bei imuninės sistemos sąveikos tyrimams.
Organism	Žmogus
Tissue	Odos
Disease	Melanoma
Synonyms	A 375, A-375, A375-MEL, A375-mel, A375-mel, A375mel

Charakteristikos

Age	54 metai
Gender	Moteris
Morphology	Į epitelį panašus
Growth properties	Prigludęs

A375 ląstelės | 300110

Reguliavimo duomenys

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

Biomolekuliniai duomenys

Antigen expression	P53 teigiamas
Tumorigenic	Taip, su nuogomis pelėmis
Mutational profile	BRAF V600Emut
Karyotype	A375 ląstelėms būdingas hipotriploidinis kariotipas, kurio modalinis chromosomų skaičius yra 62, o kiekvienoje ląstelėje yra devynios žyminčios chromosomos, išryškinančios genetinius pokyčius, susijusius su piktybine melanoma.

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO3, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20 valandų
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

A375 ląstelės | 300110

Seeding density	1 x 10^4 ląstelės/cm^2 per 4 dienas suformuos konfluentinį monosluoksnį.
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
Post-Thaw Recovery	Atšildžius, išdėliokite ląsteles 4 x 10^4 ląstelių/cm^2 tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.

A375 ląstelės | 300110

Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.
HLA aleliai	**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