

## A375 Cellen | 300110

## Algemene informatie

## Description

De A375 menselijke melanoomcellijn, geïsoleerd uit de huid van een 54-jarige vrouwelijke patiënt met maligne melanoom, is een belangrijke bron voor kankeronderzoek, met name voor de studie van menselijk melanoom, een van de meest agressieve vormen van huidkanker. De A375-celijn staat bekend om zijn snelle groeisnelheid en hoge tumorigene potentieel, waardoor deze geschikt is voor verschillende experimentele toepassingen, waaronder in-vitro-onderzoek naar celproliferatie, migratie en invasie, evenals in-vivo-tumorigenese-assays.

A375-cellen vertonen een hoog tumorigenisch potentieel in immuungecompromitteerde muizen, waar ze snelgroeiende amelanotische melanomen vormen. De aanwezigheid van de BRAFV600E-mutatie in A375-cellen maakt ze zeer gevoelig voor MEK-remming, waardoor ze een waardevol hulpmiddel zijn voor het onderzoeken van gerichte therapieën bij de behandeling van melanoom. Behandeling van A375-cellen met vemurafenib blijkt bijvoorbeeld de inductie van MHC klasse I- en klasse II-moleculen te versterken, wat inzicht geeft in de interacties tussen melanoomcellen en het immuunsysteem.

Naast hun rol in fundamenteel onderzoek naar melanoom, worden A375-cellen gebruikt bij het screenen van geneesmiddelen en bij het onderzoek naar signaalroutes die betrokken zijn bij de overleving, proliferatie en metastase van kankercellen. A375-cellen zijn verder gebruikt in apoptoseonderzoek en A375-isogene cellijnen en de introductie van reporterproteïnen zoals Luc (luc2) maken het mogelijk om de genfunctie te bestuderen en de cellulaire reacties in realtime te volgen. De geschiktheid van A375-cellen als transfectiehost en hun gebruik in stabiele reportercellijnen dragen ook bij aan hun veelzijdigheid in onderzoekstoepassingen.

Samenvattend is de A375 menselijke melanoomcellijn een cruciaal hulpmiddel bij het onderzoek naar menselijk melanoom en biedt het een uitgebreid model voor het bestuderen van de moleculaire en cellulaire mechanismen die ten grondslag liggen aan de progressie van melanoom, de werkzaamheid van therapeutische middelen en de interactie tussen kankercellen en het immuunsysteem.

**Organism** Mens

**Tissue** Huid

**Disease** Melanoom

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

## Kenmerken

**Age** 54 jaar

**Gender** Vrouw

**Morphology** Epitheelachtig

**Growth properties** Aanhangend

## A375 Cellen | 300110

## Regelgevende gegevens

**Citation** A375 (Cytion catalogusnummer 300110)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0132

## Biomoleculaire gegevens

**Antigen expression** P53-positief

**Tumorigenic** Ja, in naakte muizen

**Mutational profile** BRAF V600Emut

**Karyotype** A375-cellen worden gekenmerkt door hun hypotriplöide karyotype, met een modaal chromosoomnummer van 62, en de aanwezigheid van negen markerchromosomen in elke cel, wat de genetische veranderingen benadrukt die geassocieerd worden met kwaadaardig melanoom.

## Omgaan met

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

**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 20 uur

**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

## A375 Cellen | 300110

**Split ratio** Een verhouding van 1:3 tot 1:8 wordt aanbevolen

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  cellen/cm<sup>2</sup> resulteert binnen 4 dagen in een confluyente monolaag.

**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week

**Post-Thaw Recovery** Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van  $4 \times 10^4$  cellen/cm<sup>2</sup> en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.

**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

### Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacion met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

## A375 Cellen | 300110

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5%<sub>CO2</sub> bevochtigde atmosfeer.

**Flask Coating** Geen

**Freezing Procedure** Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**Shipping Conditions** Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**Storage Conditions** Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

## Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

**Sterility** Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

**STR profiel**

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

**A375 Cellen | 300110**

**HLA-allelen**

**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