**Product sheet**

# A375-celler | 300110

## Generell informasjon

| | |
|---|---|
| **Description** | Den humane melanomcellelinjen A375, isolert fra huden til en 54 år gammel kvinnelig pasient med ondartet melanom, er en viktig ressurs i kreftforskningen, særlig i studiet av humant melanom, en av de mest aggressive formene for hudkreft. A375-cellelinjen er kjent for sin raske vekst og høye tumorigeniske potensial, noe som gjør den egnet for ulike eksperimentelle anvendelser, inkludert in vitro-studier av celleproliferasjon, migrasjon og invasjon, samt in vivo-tumorigeneseassayer.<br><br>A375-celler viser høyt tumorigenisk potensial i immunsupprimerte mus, og danner raskt voksende amelanotiske melanomer. Tilstedeværelsen av BRAFV600E-mutasjonen i A375-celler gjør dem svært følsomme for MEK-hemming, noe som gir et verdifullt verktøy for å undersøke målrettede terapier i behandling av melanom. Behandling av A375-celler med vemurafenib har for eksempel vist seg å forbedre induksjonen av MHC klasse I- og klasse II-molekyler, noe som gir innsikt i interaksjonene mellom melanomceller og immunsystemet.<br><br>I tillegg til sin rolle i grunnleggende melanomforskning, brukes A375-celler i legemiddelscreening og i undersøkelsen av signalveier som er involvert i kreftcellers overlevelse, spredning og metastase. A375-celler har videre blitt brukt i apoptosestudier, og A375-isogene cellelinjer og introduksjonen av reporterproteiner som Luc (luc2) muliggjør studier av genfunksjon og overvåking av cellulære responser i sanntid. A375-cellers egnethet som transfeksjonsvert og deres bruk i stabile reportercellelinjer bidrar også til deres allsidighet i forskningsapplikasjoner.<br><br>Oppsummert er den humane melanomcellelinjen A375 et sentralt verktøy i undersøkelsen av humant melanom, og tilbyr en omfattende modell for å studere de molekylære og cellulære mekanismene som ligger til grunn for melanomprogresjon, effekten av terapeutiske midler og samspillet mellom kreftceller og immunsystemet. |
| **Organism** | Menneskelig |
| **Tissue** | Hud |
| **Disease** | Melanom |
| **Synonyms** | A 375, A-375, A375-MEL, A375-mel, A375mel |

## Kjennetegn

| | |
|---|---|
| **Age** | 54 år |
| **Gender** | Kvinne |
| **Morphology** | Epitel-lignende |
| **Growth properties** | Vedhengende |

**Product sheet**

## A375-celler | 300110

## Regulatoriske data

| | |
|---|---|
| **Citation** | A375 (Cytion-katalognummer 300110) |
| **Biosafety level** | 1 |
| **NCBI_TaxID** | 9606 |
| **CellosaurusAccession** | CVCL_0132 |

## Biomolekylære data

| | |
|---|---|
| **Antigen expression** | P53-positiv |
| **Tumorigenic** | Ja, i nakne mus |
| **Mutational profile** | BRAF V600Emut |
| **Karyotype** | A375-celler kjennetegnes ved sin hypotriploide karyotype, med et modalt kromosomtall på 62, og tilstedeværelsen av ni markørkromosomer i hver celle, noe som fremhever de genetiske endringene som er forbundet med malignt melanom. |

## Håndtering

| | |
|---|---|
| **Culture Medium** | DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO3, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a) |
| **Supplements** | Suppler mediet med 10 % FBS |
| **Dissociation Reagent** | Accutase |
| **Doubling time** | 20 timer |
| **Subculturing** | Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium. |

# A375-celler | 300110

| | |
|---|---|
| **Split ratio** | Et forhold på 1:3 til 1:8 anbefales |
| **Seeding density** | 1 x $10^4$ celler/$cm^2$ vil resultere i et sammenflytende monolag innen 4 dager. |
| **Fluid renewal** | 2 til 3 ganger per uke |
| **Post-Thaw Recovery** | Etter tining, plasser cellene på 4 x $10^4$ celler/$cm^2$ og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer. |
| **Freeze medium** | Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress. |
| **Thawing and Culturing Cells** | 1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.<br>2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.<br>3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.<br>4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.<br>5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.<br>6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.<br>7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.<br>8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater. |
| **Incubation Atmosphere** | 37 °C, 5 %$_{CO2}$, befuktet atmosfære. |

## A375-celler | 300110

| | |
|---|---|
| **Flask Coating** | Ingen |
| **Freezing Procedure** | Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass. |
| **Shipping Conditions** | Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass. |
| **Storage Conditions** | For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen. |

## Kvalitetskontroll og molekylær analyse

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.<br><br>For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag. |
| **STR-profil** | **Amelogenin**: x,x<br>**CSF1PO**: 11,12<br>**D13S317**: 11,14<br>**D16S539**: 9<br>**D5S818**: 12<br>**D7S820**: 9<br>**TH01**: 8<br>**TPOX**: 8,1 |
| **HLA-alleler** | **A***: '01:01:01, '02:01:01<br>**B***: '44:03:01, '57:01:01<br>**C***: '06:02:01, '16:01:01<br>**DRB1***: '04:05:01, '07:01:01<br>**DQA1***: '02:01:01, '03:03:01<br>**DQB1***: '03:02:01, '03:03:02<br>**DPB1***: '04:01:01<br>**E**: '01:01:01, '01:03 |