

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.

A375-celler viser høyt tumorigenisk potensial i immunosupprimerte 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.

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 studiet 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.

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

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, resuspendere 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 1×10^4 celler/cm² 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 4×10^4 celler/cm² 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 dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
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.
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.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkningsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten 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.
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

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte celler 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 celler 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 / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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

HLA-alleler

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