

A375-celler | 300110

Allmän information

Description

Den humana melanomcellinjen A375, isolerad från huden hos en 54-årig kvinnlig patient med malignt melanom, är en viktig resurs inom cancerforskningen, särskilt i studien av humant melanom, en av de mest aggressiva formerna av hudcancer. Cellinjen A375 är känd för sin snabba tillväxthastighet och höga tumörbildande potential, vilket gör den lämplig för olika experimentella tillämpningar, inklusive in vitro-studier av cellproliferation, migration och invasion, samt in vivo-tumörbildningstester.

A375-celler uppvisar hög tumörbildande potential hos immunsupprimerade möss och bildar snabbt växande amelanotiska melanom. Förekomsten av BRAFV600E-mutationen i A375-celler gör dem mycket känsliga för MEK-hämning, vilket ger ett värdefullt verktyg för att undersöka riktade terapier vid behandling av melanom. Behandling av A375-celler med vemurafenib har till exempel visat sig förstärka induktionen av MHC klass I- och klass II-molekyler, vilket ger insikter i interaktionerna mellan melanomceller och immunsystemet.

Förutom sin roll i grundläggande melanomforskning används A375-celler i läkemedelsscreening och i undersökningen av signalvägar som är involverade i cancercellers överlevnad, proliferation och metastasering. A375-celler har vidare använts i apoptosstudier och A375-isogena cellinjer och introduktionen av reporterproteiner som Luc (luc2) möjliggör studier av genfunktion och övervakning av cellulära svar i realtid. A375-cellernas lämplighet som transfektionsvärd och deras användning i stabila reportercellinjer bidrar också till deras mångsidighet i forskningsapplikationer.

Sammanfattningsvis är den humana melanomcellinjen A375 ett centralt verktyg i undersökningen av humant melanom och erbjuder en omfattande modell för att studera de molekylära och cellulära mekanismer som ligger till grund för melanomets progression, terapeutiska medlemmars effektivitet och interaktionen mellan cancerceller och immunsystemet.

Organism Människan

Tissue Hud

Disease Melanom

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

Egenskaper

Age 54 år

Gender Kvinna

Morphology Epitelliknande

Growth properties Följsam

A375-celler | 300110

Lagstadgade uppgifter

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

Biomolekylära data

Antigen expression	P53-positiv
Tumorigenic	Ja, i nakna möss
Mutational profile	BRAF V600Emut
Karyotype	A375-cellerna kännetecknas av sin hypotriploida karyotyp, med ett modalt kromosomantal på 62, och förekomsten av nio markörkromosomer i varje cell, vilket belyser de genetiska förändringar som är förknippade med malignt melanom.

Hantering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20 timmar
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

A375-celler | 300110

Split ratio Ett förhållande på 1:3 till 1:8 rekommenderas

Seeding density 1×10^4 celler/cm² resulterar i ett konfluent monolager inom 4 dagar.

Fluid renewal 2 till 3 gånger per vecka

Post-Thaw Recovery Efter upptining, plattlägg cellerna med 4×10^4 celler/cm² och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.

Freeze medium Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrys vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

A375-celler | 300110

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, befuktad atmosfär.

Flask Coating Ingen

Freezing Procedure Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Shipping Conditions Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasma diagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

STR-profil

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

A375-celler | 300110

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