

Bunky A375 | 300110**Všeobecné informácie****Description**

Ľudská melanómová bunka A375, izolovaná z kože 54-ročnej pacientky s malígnym melanómom, je významným zdrojom v oblasti výskumu rakoviny, najmä pri štúdiu ľudského melanómu, jednej z najagresívnejších foriem rakoviny kože. Bunka A375 je známa svojím rýchlym rastom a vysokým tumorigenickým potenciálom, vďaka čomu je vhodná na rôzne experimentálne aplikácie, vrátane in vitro štúdií proliferácie, migrácie a invázie buniek, ako aj in vivo testov tumorigenézy.

Bunky A375 vykazujú vysoký tumorigenický potenciál u imunosuprimovaných myší, kde tvoria rýchlo rastúce amelanotické melanómy. Prítomnosť mutácie BRAFV600E v bunkách A375 ich robí vysoko citlivými na inhibíciu MEK, čo poskytuje cenný nástroj na skúmanie cielených terapií v liečbe melanómu. Ukázalo sa, že liečba buniek A375 vemurafenibom napríklad zvyšuje indukciu molekúl MHC triedy I a triedy II, čo poskytuje pohľad na interakcie medzi bunkami melanómu a imunitným systémom.

Okrem svojej úlohy v základnom výskume melanómu sa bunky A375 používajú pri skríningu liekov a pri skúmaní signálnych dráh zapojených do prežitia, proliferácie a metastázovania rakovinových buniek. Bunky A375 sa ďalej využívajú v štúdiách apoptózy a izogénne bunkové línie A375 a zavedenie reportérových proteínov, ako je Luc (luc2), umožňujú štúdium gémovej funkcie a monitorovanie bunkových reakcií v reálnom čase. Vhodnosť buniek A375 ako transfekčného hostiteľa a ich použitie v stabilných reportérových bunkových líniách tiež prispievajú k ich univerzálnosti vo výskumných aplikáciách.

Zhrnutie: Ľudská melanómová bunková línia A375 je kľúčovým nástrojom pri skúmaní ľudského melanómu a ponúka komplexný model na štúdium molekulárnych a bunkových mechanizmov, ktoré sú základom progresie melanómu, účinnosti terapeutických látok a interakcie medzi rakovinovými bunkami a imunitným systémom.

Organism Ľudské**Tissue** Koža**Disease** Melanóm**Synonyms** A 375, A-375, A375-MEL, A375-mel, A375mel**Charakteristika****Age** 54 rokov**Gender** Ženy**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Adherent

Bunky A375 | 300110**Regulačné údaje****Citation** A375 (katalógové číslo Cytion 300110)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0132**Biomolekulárne údaje****Antigen expression** P53 pozitívny**Tumorigenic** Áno, na nahých myšiach**Mutational profile** BRAF V600Emut**Karyotype** Bunky A375 sa vyznačujú hypotriploidným karyotypom s modálnym počtom chromozómov 62 a prítomnosťou deviatich markerových chromozómov v každej bunke, čo poukazuje na genetické zmeny spojené s malígnym melanómom.**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 20 hodín**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Bunky A375 | 300110

Seeding density 1 x 10⁴ buniek/cm² bude mať za následok konfluentnú monovrstvu do 4 dní.

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 4 x 10⁴ buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Bunky A375 | 300110

Flask Coating Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Alely HLA

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