Product sheet

Celice A375 | 300110

Splošne informacije

Description	Članska linija človeškega melanoma A375, izolirana iz kože 54-letne ženske pacientke z malignim melanomom, je pomemben vir v raziskavah raka, zlasti v študijah človeškega melanoma, ene najbolj agresivnih oblik kožnega raka. Celična linija A375 je znana po hitri rasti in visokem tumorigenem potencialu, zaradi česar je primerna za različne eksperimentalne aplikacije, vključno z in vitro študijami celične proliferacije, migracije in invazije ter in vivo testiranjem tumorigenoze. Celice A375 kažejo visok tumorigeni potencial pri imunsko oslabljenih miših, kjer tvorijo hitro rastoče amelanotične melanome. Prisotnost mutacije BRAFV600E v celicah A375 jih naredi zelo občutljive na inhibicijo MEK, kar je dragoceno orodje za raziskovanje ciljnih terapij pri zdravljenju melanoma. Na primer, zdravljenje celic A375 z vemurafenibom je pokazalo, da poveča indukcijo molekul MHC razreda I in razreda II, kar ponuja vpogled v interakcije med celicami melanoma in imunskim sistemom. Poleg svoje vloge v osnovnem raziskovanju melanoma se celice A375 uporabljajo pri presejanju zdravil in raziskovanju signalnih poti, vključenih v preživetje, proliferacijo in metastaziranje rakavih celic. Celice A375 so bile nadalje uporabljene v študijah apoptoze, izogenih celičnih linijah A375 in uvedbi poročevalskih proteinov, kot je Luc (luc2), kar omogoča študijo genetske funkcije in spremljanje celičnih odzivov v realnem času. Primernost celic A375 kot gostitelja transfekcije in njihova uporaba v stabilnih poročevalskih celičnih linijah prav tako prispevata k njihovi vsestranski uporabi v raziskovalnih aplikacijah. Skratka, človeška melanoma celična linija A375 je ključno orodje pri raziskovanju človeškega melanoma, saj ponuja celovit model za študij molekularnih in celičnih mehanizmov, ki so osnova za napredovanje melanoma, učinkovitost terapevtskih sredstev in interakcijo med rakavimi celicami in imunskim sistemom.
Organism	Človek
Tissue	Koža
Disease	Melanom
Synonyms	A 375, A-375, A375-MEL, A375-mel, A375mel

Značilnosti

Age	54 let
Gender	Ženske
Morphology	Epitelijam podobni
Growth properties	Pripadajoče

Product sheet

Celice A375 | 300110

Regulativni podatki

Citation	A375 (Cytionova kataloška številka 300110)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0132

Biomolekularni podatki

Antigen expression	P53 pozitiven
Tumorigenic	Da, na golih miših
Mutational profile	BRAF V600Emut
Karyotype	Za celice A375 je značilen hipotriploidni kariotip z modalnim številom kromosomov 62 in prisotnost devetih markerskih kromosomov v vsaki celici, kar poudarja genetske spremembe, povezane z malignim melanomom.

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20 ur
Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Celice A375 | 300110

Seeding density	1 x 10^4 celic/cm^2 bo v 4 dneh povzročilo konfluentno monosloj.
Fluid renewal	2 do 3-krat na teden
Post-Thaw Recovery	Po odmrzovanju nanesite celice v koncentraciji 4 x 10^4 celic/cm^2 in pustite, da se celice opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo za najmanj 24 ur.
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavrzite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, vlažno ozračje.

Celice A375 | 300110

Flask Coating	Nič
Freezing Procedure	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Shipping Conditions	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Storage Conditions	Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility	Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence. Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.
Aleli 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