

A375 Hücreleri | 300110**Genel bilgi****Description**

54 yaşındaki malign melanomlu bir kadın hastanın derisinden izole edilen A375 insan melanom hücre hattı, kanser araştırmalarında, özellikle de en agresif cilt kanseri türlerinden biri olan insan melanomunun araştırılmasında önemli bir kaynaktır. A375 hücre hattı, hızlı büyüme hızı ve yüksek tümörojenik potansiyeli ile bilinir ve bu özellikleri, hücre proliferasyonu, göçü ve invazyonu üzerine in vitro çalışmaların yanı sıra in vivo tümörojenik testler de dahil olmak üzere çeşitli deneysel uygulamalar için uygun hale getirir.

A375 hücreleri, immünosupresif farelerde yüksek tümörojenik potansiyel gösterir ve hızla büyüyen amelanotik melanomlar oluşturur. A375 hücrelerinde BRAFV600E mutasyonunun varlığı, bu hücreleri MEK inhibisyonuna karşı oldukça duyarlı hale getirir ve melanom tedavisinde hedefe yönelik tedavileri araştırmak için değerli bir araç sağlar. Örneğin, A375 hücrelerinin vemurafenib ile tedavisi, MHC Sınıf I ve Sınıf II moleküllerinin indüksiyonunu arttırdığı gösterilmiştir ve bu da melanom hücreleri ile bağışıklık sistemi arasındaki etkileşimler hakkında bilgi sağlar.

A375 hücreleri, temel melanom araştırmalarındaki rollerinin yanı sıra, ilaç taramalarında ve kanser hücresi sağkalımı, proliferasyonu ve metastazında rol oynayan sinyal yollarının araştırılmasında da kullanılmaktadır. A375 hücreleri ayrıca apoptoz çalışmalarında ve A375 izojenik hücre hatlarında kullanılmıştır ve Luc (luc2) gibi raportör proteinlerin eklenmesi, gen fonksiyonunun incelenmesini ve hücresel yanıtların gerçek zamanlı olarak izlenmesini mümkün kılar. A375 hücrelerinin transfeksiyon konağı olarak uygunluğu ve stabil raportör hücre hatlarında kullanımı da araştırma uygulamalarında çok yönlülüğüne katkıda bulunur.

Özetle, A375 insan melanom hücre hattı, insan melanomunun araştırılmasında çok önemli bir araçtır ve melanomun ilerlemesinin altında yatan moleküler ve hücresel mekanizmaların, terapötik ajanların etkinliğinin ve kanser hücreleri ile bağışıklık sistemi arasındaki etkileşimin incelenmesi için kapsamlı bir model sunar.

Organism İnsan**Tissue** Cilt**Disease** Melanom**Synonyms** A 375, A-375, A375-MEL, A375-mel, A375mel**Özellikler****Age** 54 yıl**Gender** Kadın**Morphology** Epitel benzeri**Growth properties** Yapışık

A375 Hücreleri | 300110

Düzenleyici Veriler

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

Biyomoleküler Veriler

Antigen expression	P53 pozitif
Tumorigenic	Evet, çıplak farelerde
Mutational profile	BRAF V600Emut

Karyotype A375 hücreleri, modal kromozom sayısı 62 olan hipotriploid karyotipleri ve her hücrede malign melanom ile ilişkili genetik değişiklikleri vurgulayan dokuz işaret kromozomunun varlığı ile karakterize edilir.

Elleçleme

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)
Supplements	Ortamı %10 FBS ile takviye edin
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20 saat
Subculturing	Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.

A375 Hücreleri | 300110

Seeding density 1×10^4 hücre/cm², 4 gün içinde birleşik tek tabaka oluşturacaktır.

Fluid renewal haftada 2 ila 3 kez

Post-Thaw Recovery Çözüldükten sonra, hücreleri 4×10^4 hücre/cm² olarak plakaya yerleştirin ve hücrelerin dondurma işleminden kurtulmasını ve en az 24 saat boyunca yapışmasını bekleyin.

Freeze medium Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere 37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

A375 Hücreleri | 300110

Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

HLA alelleri

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