Product sheet

Клітини A375 | 300110

Загальна інформація

Description	Лінія клітин меланоми людини A375, виділена зі шкіри 54-річної пацієнтки із злоякісною меланомою, є важливим ресурсом у дослідженні раку, зокрема у вивченні меланоми людини, однієї з найагресивніших форм раку шкіри. Клітинна лінія A375 відома своїм швидким темпом росту та високим пухлиногенним потенціалом, що робить її придатною для різних експериментальних застосувань, включаючи дослідження in vitro проліферації, міграції та інвазії клітин, а також тести на пухлиногенез in vivo. Клітини A375 виявляють високий пухлиногенний потенціал у мишей з імуносупресією, утворюючи швидко зростаючі амеланотичні меланоми. Наявність мутації BRAFV600E в клітинах A375 робить їх дуже чутливими до інгібування MEK, що є цінним інструментом для дослідження цільових терапій у лікуванні меланоми. Наприклад, було показано, що лікування клітин A375 вемурафенібом посилює індукцію молекул MHC класу I та класу II, що дає уявлення про взаємодію між клітинами меланоми та імунною системою. Окрім своєї ролі в фундаментальних дослідженнях меланоми, клітини A375 використовуються для скринінгу лікарських препаратів та дослідження сигнальних шляхів, що беруть участь у виживанні, проліферації та метастазуванні ракових клітин. Клітини A375 також використовуються в дослідженнях апоптозу, а ізогенні клітинні лінії A375 та введення репортерних білків, таких як Luc (luc2), дозволяють досліджувати функцію генів та моніторити клітинні реакції в режимі реального часу. Придатність клітин A375 як носія трансфекції та їх використання в стабільних репортерних клітинних лініях також сприяють їх універсальності в дослідницьких застосуваннях. Підсумовуючи, клітинна лінія A375 людської меланоми є ключовим інструментом у дослідженні людської меланоми, пропонуючи комплексну модель для вивчення молекулярних і клітинних механізмів, що лежать в основі прогресування меланоми, ефективності терапевтичних засобів та взаємодії між раковими клітинами та імунною системою.
Organism	Людина
Tissue	Шкіра
Disease	Меланома
Synonyms	A 375, A-375, A375-MEL, A375-mel, A375mel

Характеристики

Age	54 роки
Gender	Жінка
Morphology	Епітеліальноподібні

Product sheet

Клітини A375 | 300110

Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	A375 (номер за каталогом Cytion 300110)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0132

Біомолекулярні дані

Antigen expression	P53 позитивний
Tumorigenic	Так, у голих мишей
Mutational profile	BRAF V600Emut
Karyotype	Клітини A375 характеризуються гіпотриплоїдним каріотипом з модальним числом хромосом 62 і наявністю дев'яти маркерних хромосом у кожній клітині, що підкреслює генетичні зміни, пов'язані зі злоякісною меланомою.

Обробка

Culture Medium	ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Doubling time	20 годин

Клітини A375 | 300110

Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Seeding density	1 x 10^4 клітин/$см^2$ призведе до утворення конфлюентного моношару протягом 4 днів.
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Post-Thaw Recovery	Після розморожування висійте клітини з щільністю 4 x 10^4 клітин/^{см2} і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини A375 | 300110

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини A375 | 300110

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.
HLA алелі	**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