Product sheet

Tế bào A375 | 300110

Thông tin chung

Description	Dòng tế bào u hắc tố người A375, được phân lập từ da của một bệnh nhân nữ 54 tuổi mắc u hắc tố ác tính, là một nguồn tài nguyên quan trọng trong nghiên cứu ung thư, đặc biệt là trong việc nghiên cứu u hắc tố người, một trong những dạng ung thư da ác tính nhất. Dòng tế bào A375 nổi tiếng với tốc độ tăng trưởng nhanh và tiềm năng gây ung thư cao, khiến chúng phù hợp cho nhiều ứng dụng thí nghiệm, bao gồm các nghiên cứu in vitro về sự tăng sinh, di chuyển và xâm lấn của tế bào, cũng như các thử nghiệm gây ung thư in vivo. Tế bào A375 thể hiện tiềm năng gây ung thư cao ở chuột bị ức chế miễn dịch, hình thành các khối u melanoma không có sắc tố phát triển nhanh chóng. Sự hiện diện của đột biến BRAFV600E trong tế bào A375 khiến chúng trở nên nhạy cảm cao với ức chế MEK, cung cấp một công cụ quý giá để nghiên cứu các liệu pháp nhắm mục tiêu trong điều trị ung thư hắc tố. Việc điều trị tế bào A375 bằng vemurafenib, ví dụ, đã được chứng minh là tăng cường sự biểu hiện của các phân tử MHC Class I và Class II, cung cấp cái nhìn sâu sắc về tương tác giữa tế bào ung thư hắc tố và hệ miễn dịch. Ngoài vai trò trong nghiên cứu cơ bản về u hắc tố, tế bào A375 được sử dụng trong sàng lọc thuốc và nghiên cứu các con đường tín hiệu liên quan đến sự sống còn, phát triển và di căn của tế bào ung thư. Tế bào A375 cũng được sử dụng trong các nghiên cứu về apoptosis, và các dòng tế bào đồng nhất A375 cùng với việc giới thiệu các protein báo cáo như -Luc (luc2) cho phép nghiên cứu chức năng gen và theo dõi phản ứng tế bào theo thời gian thực. Khả năng của tế bào A375 làm vật chủ cho quá trình chuyển gen và việc sử dụng chúng trong các dòng tế bào báo cáo ổn định cũng góp phần vào tính linh hoạt của chúng trong các ứng dụng nghiên cứu. Tóm lại, dòng tế bào u hắc tố người A375 là công cụ quan trọng trong nghiên cứu u hắc tố người, cung cấp mô hình toàn diện để nghiên cứu các cơ chế phân tử và tế bào cơ bản của sự tiến triển u hắc tố, hiệu quả của các tác nhân điều trị và tương tác giữa tế bào ung thư và hệ miễn dịch.
Organism	Con người
Tissue	Da
Disease	Ung thư hắc tố
Synonyms	A 375, A-375, A375-MEL, A375-mel, A375mel

Đặc điểm

Age	54 năm
Gender	Nữ
Morphology	Tương tự biểu mô
Growth properties	Người tuân thủ

Product sheet

Tế bào A375 | 300110

Dữ liệu quy định

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

Dữ liệu sinh học phân tử

Antigen expression	P53 dương tính
Tumorigenic	Đúng vậy, ở chuột nude
Mutational profile	BRAF V600Emut
Karyotype	Tế bào A375 được đặc trưng bởi karyotype hypotriploid, với số lượng nhiễm sắc thể trung bình là 62, và sự hiện diện của chín nhiễm sắc thể chỉ thị trong mỗi tế bào, nhấn mạnh các biến đổi di truyền liên quan đến u hắc tố ác tính.

Xử lý

Culture Medium	DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L $NaHCO_3$, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)
Supplements	Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20 giờ
Subculturing	Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

Tế bào A375 | 300110

Seeding density	1 x 10^4 tế bào/cm^2 sẽ tạo thành một lớp đơn liên tục trong vòng 4 ngày.
Fluid renewal	2 đến 3 lần mỗi tuần
Post-Thaw Recovery	Sau khi rã đông, gieo tế bào với mật độ 4 x 10^4 tế bào/cm^2 và để tế bào phục hồi sau quá trình đông lạnh và bám dính ít nhất 24 giờ.
Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Thawing and Culturing Cells

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở 300 x g trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO_2}$, môi trường ẩm.

Tế bào A375 | 300110

Flask Coating	Không có
Freezing Procedure	Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.
Shipping Conditions	Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.
Storage Conditions	Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng và phân tích phân tử

Sterility	Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang. Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.
Các alen 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