Product sheet

A375 rakud | 300110

Üldine teave

Description	A375 inimese melanoomi rakuliin, mis on isoleeritud 54-aastase pahaloomulise melanoomiga naispatsiendi nahast, on oluline ressurss vähiuuringutes, eriti inimese melanoomi uurimisel, mis on üks agressiivseimaid nahavähi vorme. A375 rakuliin on tuntud oma kiire kasvu ja kõrge tuumorigeense potentsiaali poolest, mis muudab need sobivaks mitmesugusteks eksperimentaalseteks rakendusteks, sealhulgas in vitro uuringuteks rakkude proliferatsiooni, migratsiooni ja invasiivsuse kohta, samuti in vivo tuumorigeense analüüside jaoks. A375 rakud näitavad kõrget tuumorigeenset potentsiaali immunosupresseeritud hiirtel, moodustades kiiresti kasvavaid amelanotootilisi melanoome. BRAFV600E mutatsiooni esinemine A375 rakkudes muudab need väga tundlikuks MEK inhibeerimise suhtes, pakkudes väärtuslikku vahendit melanoomi ravis kasutatavate sihtterapiate uurimiseks. Näiteks on näidatud, et A375 rakkude ravi vemurafenibiga suurendab MHC I ja II klassi molekulide indutseerimist, pakkudes teadmisi melanoomi rakkude ja immuunsüsteemi vaheliste interaktsioonide kohta. Lisaks oma rollile melanoomi alusuuringutes kasutatakse A375 rakke ravimite sõelumisel ja vähirakkude ellujäämise, paljunemise ja metastaaside tekkega seotud signaaliteede uurimisel. A375 rakke on kasutatud ka apoptoosi uuringutes ning A375 isogeensed rakuliinid ja reportervalkude, nagu Luc (luc2), kasutuselevõtt võimaldavad uurida geenide funktsiooni ja jälgida rakkude reaktsioone reaalajas. A375 rakkude sobivus transfektsiooni peremeesrakkudeks ja nende kasutamine stabiilsetes reporterrakuliinides aitab kaasa nende mitmekülgsusele teadusuuringutes. Kokkuvõttes on A375 inimese melanoomi rakuliin oluline vahend inimese melanoomi uurimisel, pakkudes terviklikku mudelit melanoomi progresseerumise molekulaar- ja rakumehhanismide, ravimite efektiivsuse ning vähirakkude ja immuunsüsteemi vahelise interaktsiooni uurimiseks.
Organism	Inimene
Tissue	Nahk
Disease	Melanoom
Synonyms	A 375, A-375, A375-MEL, A375-mel, A375mel, A375mel

Omadused

Age	54 aastat
Gender	Naised
Morphology	Epiteelilaadsed
Growth properties	Kinnipeetav

Product sheet

A375 rakud | 300110

Regulatiivsed andmed

Citation	A375 (Cytioni kataloginumber 300110)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0132

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression	P53 positiivne
Tumorigenic	Jah, alasti hiirtel
Mutational profile	BRAF V600Emut
Karyotype	A375 rakke iseloomustab nende hüpotriploidne karüotüüp, mille modaalne kromosoomide arv on 62, ja üheksa markerkromosoomi olemasolu igas rakus, mis toob esile pahaloomulise melanoomiga seotud geneetilised muutused.

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20 tundi
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

A375 rakud | 300110

Seeding density	1 x 10^4 rakku/cm^2 annab 4 päeva jooksul konfluentse monokihi.
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 4 x $10^{4\ rakku}$/cm^2 ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub

A375 rakud | 300110

Freezing Procedure	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Storage Conditions	Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.
HLA alleles	**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