

A375-solut | 300110

Yleisiä tietoja

Description

A375-ihmisen melanoomasolulinja, joka on eristetty 54-vuotiaan pahanlaatuisesta melanoomasta kärsivän naispotilaan ihosta, on merkittävä resurssi syöpätutkimuksessa, erityisesti ihmisen melanooman, yhden aggressiivisimmista ihosyövistä, tutkimuksessa. A375-solulinja tunnetaan nopeasta kasvuvauhdistaan ja suuresta tuumorigeenisestä potentiaalistaan, minkä ansiosta se soveltuu erilaisiin kokeellisiin sovelluksiin, kuten solujen proliferaatiota, migraatiota ja invaasiota koskeviin in vitro -tutkimuksiin sekä in vivo -tuumorigeenisyytysteihin.

A375-solut osoittavat suurta tuumorigeenistä potentiaalia immunosuppressoiduissa hiirissä muodostaen nopeasti kasvavia amelanotisia melanoomia. BRAFV600E-mutaatio A375-soluissa tekee niistä erittäin herkkiä MEK-inhibiitioille, mikä tarjoaa arvokkaan työkalun melanooman hoidon kohdennettujen terapioiden tutkimiseen. Esimerkiksi A375-solujen hoito vemurafenibilla on osoitettu tehostavan MHC-luokan I ja II molekyylien induktiota, mikä tarjoaa tietoa melanoomasolujen ja immuunijärjestelmän välisistä vuorovaikutuksista.

Perusmelanoomatutkimuksen lisäksi A375-soluja käytetään lääkeaineiden seulonnassa ja syöpäsolujen selviytymiseen, proliferaatioon ja metastaasien muodostumiseen liittyvien signalointireittien tutkimuksessa. A375-soluja on käytetty myös apoptoositutkimuksissa, ja A375-isogeeniset solulinjat ja reporteriproteiinien, kuten Luc (luc2), käyttöönotto mahdollistavat geenien toiminnan tutkimisen ja solujen reaktioiden seurannan reaaliajassa. A375-solujen sopivuus transfektiokohteeksi ja niiden käyttö stabiileissa reporterisolulinjoissa lisäävät niiden monipuolisuutta tutkimussovelluksissa.

Yhteenvetona voidaan todeta, että A375-ihmisen melanoomasolulinja on keskeinen työkalu ihmisen melanooman tutkimuksessa, sillä se tarjoaa kattavan mallin melanooman etenemisen taustalla olevien molekyyli- ja solumekanismien, terapeuttisten aineiden tehokkuuden sekä syöpäsolujen ja immuunijärjestelmän välisen vuorovaikutuksen tutkimiseen.

Organism Ihminen

Tissue Iho

Disease Melanooma

Synonyms A 375, A-375, A375-MEL, A375-mel, A375mel, A375mel

Ominaisuudet

Age 54 vuotta

Gender Nainen

Morphology Epiteelin kaltainen

A375-solut | 300110

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation A375 (Cytionin luettelonumero 300110)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0132

Biomolekyylitiedot

Antigen expression P53-positiivinen

Tumorigenic Kyllä, alastomilla hiirillä

Mutational profile BRAF V600Emut

Karyotype A375-soluille on ominaista niiden hypotriploidinen karyotyyppi, jonka modaalin kromosomimäärä on 62, ja yhdeksän merkkikromosomia kussakin solussa, mikä korostaa pahanlaatuisen melanoomaan liittyviä geneettisiä muutoksia.

Käsittely

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 20 tuntia

A375-solut | 300110

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Seeding density 1×10^4 solua/cm² tuottaa yhtenäisen yksikerroksen 4 päivän kuluessa.

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen levitä solut 4×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua jäädyttämisprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

A375-solut | 300110

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

A375-solut | 300110

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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