

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 osmoprotektantteja 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 kuivajäädessä, 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 jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä 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

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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

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

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä 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