**Product sheet**

# 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 korkeasta tuumorigeenisestä potentiaalistaan, minkä ansiosta se soveltuu erilaisiin kokeellisiin sovelluksiin, kuten solujen proliferaatiota, migraatiota ja invaasiota koskeviin in vitro -tutkimuksiin sekä in vivo -tuumorigeenisyystesteihin.<br><br>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.<br><br>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.<br><br>Yhteenvetona voidaan todeta, että A375-ihmisen melanoomasolulinja on keskeinen työkalu ihmisen melanooman tutkimuksessa, ja 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 |

## Sääntelytiedot

| | |
|---|---|
| **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 modaalinen kromosomimäärä on 62, ja yhdeksän merkkikromosomia kussakin solussa, mikä korostaa pahanlaatuiseen 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 tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita. |
| **Seeding density** | 1 x $10^4$ solua/$cm^2$ tuottaa yhtenäisen yksikerroksen 4 päivän kuluessa. |
| **Fluid renewal** | 2-3 kertaa viikossa |
| **Post-Thaw Recovery** | Sulattamisen jälkeen levitä solut 4 x $10^4$ solua/$cm^2$ 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 syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.

2. Vastaanotettaessa 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 mikrobilääkettä, 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 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä. |
| **Flask Coating** | Ei mitään |
| **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. |
| **Shipping Conditions** | 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. |

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

## Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

| | |
|---|---|
| **Sterility** | Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.<br><br>Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti. |

| | |
|---|---|
| **HLA-alleelit** | **A***: '01:01:01, '02:01:01<br>**B***: '44:03:01, '57:01:01<br>**C***: '06:02:01, '16:01:01<br>**DRB1***: '04:05:01, '07:01:01<br>**DQA1***: '02:01:01, '03:03:01<br>**DQB1***: '03:02:01, '03:03:02<br>**DPB1***: '04:01:01<br>**E**: '01:01:01, '01:03 |