

## A375 šūnas | 300110

## Vispārīga informācija

## Description

A375 cilvēka melanomas šūnu līnija, kas izolēta no 54 gadus vecas sievietes pacienta ādas ar ļaundabīgu melanomu, ir nozīmīgs resurss vēža pētniecībā, jo īpaši cilvēka melanomas, vienas no agresīvākajām ādas vēža formām, pētniecībā. A375 šūnu līnija ir pazīstama ar straujo augšanas ātrumu un augsto tumorogēno potenciālu, kas padara tās piemērotas dažādiem eksperimentāliem pielietojumiem, tostarp in vitro pētījumiem par šūnu proliferāciju, migrāciju un invāziju, kā arī in vivo tumorogēzes testiem.

A375 šūnas izrāda augstu tumorogēno potenciālu imūnsistēmas nomāktām pelēm, veidojot strauji augošas amelanotiskas melanomas. BRAFV600E mutācijas klātbūtne A375 šūnās padara tās ļoti jutīgas pret MEK inhibīciju, nodrošinot vērtīgu instrumentu mērķtiecīgas terapijas izpētei melanomas ārstēšanā. Piemēram, ir pierādīts, ka A375 šūnu ārstēšana ar vemurafenibu pastiprina MHC I un II klases molekulu indukciju, sniedzot ieskatu melanomas šūnu un imūnsistēmas mijiedarbībā.

Papildus to lomai melanomas pamatpētījumos, A375 šūnas tiek izmantotas zāļu skrīningā un vēža šūnu izdzīvošanas, proliferācijas un metastāžu signālceļu izpētē. A375 šūnas ir tālāk izmantotas apoptozes pētījumos, un A375 izogēnās šūnu līnijas un reporteru proteīnu, piemēram, Luc (Luc2), ieviešana ļauj pētīt gēnu funkcijas un reāllaikā uzraudzīt šūnu reakcijas. A375 šūnu piemērotība kā transfekcijas saimnieks un to izmantošana stabilās reporteru šūnu līnijās arī veicina to daudzpusību pētniecības lietojumos.

Kopumā A375 cilvēka melanomas šūnu līnija ir būtisks instruments cilvēka melanomas izpētē, piedāvājot visaptverošu modeli melanomas progresijas molekulāro un šūnu mehānismu, terapeitisko līdzekļu efektivitātes un vēža šūnu un imūnsistēmas mijiedarbības izpētei.

**Organism** Cilvēks

**Tissue** Āda

**Disease** Melanoma

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

## Raksturojums

**Age** 54 gadi

**Gender** Sievietes

**Morphology** Epitēlijveidīgs

**Growth properties** Adherent

## Normatīvie dati

## A375 šūnas | 300110

**Citation** A375 (Cytion kataloga numurs 300110)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0132

## Biomolekulārie dati

**Antigen expression** P53 pozitīvs**Tumorigenic** Jā, kailām pelēm**Mutational profile** BRAF V600Emut**Karyotype** A375 šūnām ir raksturīgs hipotriploīds kariotips ar modālo hromosomu skaitu 62 un deviņu marķieru hromosomu klātbūtne katrā šūnā, kas izceļ ģenētiskās izmaiņas, kas saistītas ar ļaundabīgo melanomu.

## Darbs ar

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 20 stundas**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup> 4 dienu laikā izveidosies konfluents monoslānis.

## A375 šūnas | 300110

**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu  $4 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup> un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, mitrināta atmosfēra.

## A375 šūnas | 300110

### Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

### HLA alēles

**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