

Células A375 | 300110**Información general****Description**

La línea celular de melanoma humano A375, aislada de la piel de una paciente de 54 años con melanoma maligno, es un recurso importante en la investigación del cáncer, especialmente en el estudio del melanoma humano, una de las formas más agresivas de cáncer de piel. La línea celular A375 es conocida por su rápida tasa de crecimiento y su alto potencial tumorigénico, lo que la hace adecuada para diversas aplicaciones experimentales, incluidos estudios in vitro sobre la proliferación, migración e invasión celular, así como ensayos de tumorigénesis in vivo.

Las células A375 muestran un alto potencial tumorigénico en ratones inmunodeprimidos, formando melanomas amelanóticos de rápido crecimiento. La presencia de la mutación BRAFV600E en las células A375 las hace muy sensibles a la inhibición de MEK, lo que las convierte en una herramienta valiosa para investigar terapias dirigidas en el tratamiento del melanoma. Se ha demostrado, por ejemplo, que el tratamiento de las células A375 con vemurafenib mejora la inducción de moléculas MHC de clase I y clase II, lo que ofrece información sobre las interacciones entre las células del melanoma y el sistema inmunitario.

Además de su papel en la investigación básica del melanoma, las células A375 se utilizan en la selección de fármacos y en la investigación de las vías de señalización implicadas en la supervivencia, la proliferación y la metástasis de las células cancerosas. Las células A375 se han utilizado además en estudios de apoptosis, y las líneas celulares isogénicas A375 y la introducción de proteínas reporteras como Luc (luc2) permiten el estudio de la función génica y la monitorización de las respuestas celulares en tiempo real. La idoneidad de las células A375 como huéspedes de transfección y su uso en líneas celulares reporteras estables también contribuyen a su versatilidad en aplicaciones de investigación.

En resumen, la línea celular de melanoma humano A375 es una herramienta fundamental en la investigación del melanoma humano, ya que ofrece un modelo completo para estudiar los mecanismos moleculares y celulares que subyacen a la progresión del melanoma, la eficacia de los agentes terapéuticos y la interacción entre las células cancerosas y el sistema inmunitario.

Organism Humano

Tissue Piel

Disease Melanoma

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

Características

Age 54 años

Gender Mujer

Morphology De tipo epitelial

Células A375 | 300110

Growth properties Adherente

Datos reglamentarios

Citation A375 (número de catálogo Cytion 300110)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0132

Datos biomoleculares

Antigen expression P53 positivo

Tumorigenic Sí, en ratones desnudos

Mutational profile BRAF V600Emut

Karyotype Las células A375 se caracterizan por su cariotipo hipotriploide, con un número cromosómico modal de 62, y la presencia de nueve cromosomas marcadores en cada célula, lo que pone de manifiesto las alteraciones genéticas asociadas al melanoma maligno.

Manejo de

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO₃, w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)

Supplements Complementar el medio con un 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 20 horas

Células A375 | 300110

Subculturing	Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.
Split ratio	Se recomienda una proporción de 1:3 a 1:8
Seeding density	1×10^4 células/cm ² dará lugar a una monocapa confluyente en 4 días.
Fluid renewal	de 2 a 3 veces por semana
Post-Thaw Recovery	Después de descongelar, siembre las células a 4×10^4 células/cm ² y deje que las células se recuperen del proceso de congelación y se adhieran durante al menos 24 horas.
Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Células A375 | 300110

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células A375 | 300110

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Perfil de STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11,12
D13S317: 11,14
D16S539: 9
D5S818: 12
D7S820: 9
TH01: 8
TPOX: 8,1

Alelos HLA

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