

Cellules A375 | 300110

Informations générales

Description

La lignée cellulaire A375 de mélanome humain, isolée à partir de la peau d'une patiente de 54 ans atteinte d'un mélanome malin, constitue une ressource importante pour la recherche sur le cancer, en particulier pour l'étude du mélanome humain, l'une des formes les plus agressives de cancer de la peau. La lignée cellulaire A375 est connue pour son taux de croissance rapide et son potentiel tumorigène élevé, ce qui la rend adaptée à diverses applications expérimentales, notamment les études in vitro sur la prolifération, la migration et l'invasion cellulaires, ainsi que les tests de tumorigénèse in vivo.

Les cellules A375 présentent un potentiel tumorigène élevé chez les souris immunodéprimées, formant des mélanomes amélanotiques à croissance rapide. La présence de la mutation BRAFV600E dans les cellules A375 les rend très sensibles à l'inhibition de la MEK, ce qui en fait un outil précieux pour étudier les thérapies ciblées dans le traitement du mélanome. Le traitement des cellules A375 avec le vemurafenib, par exemple, s'est avéré améliorer l'induction des molécules MHC de classe I et de classe II, ce qui permet de mieux comprendre les interactions entre les cellules mélanomateuses et le système immunitaire.

Outre leur rôle dans la recherche fondamentale sur le mélanome, les cellules A375 sont utilisées dans le criblage de médicaments et dans l'étude des voies de signalisation impliquées dans la survie, la prolifération et la métastase des cellules cancéreuses. Les cellules A375 ont également été utilisées dans des études sur l'apoptose, et les lignées cellulaires isogéniques A375 et l'introduction de protéines rapporteuses telles que Luc (luc2) permettent d'étudier la fonction des gènes et de surveiller les réponses cellulaires en temps réel. L'aptitude des cellules A375 à servir d'hôte de transfection et leur utilisation dans des lignées cellulaires rapporteuses stables contribuent également à leur polyvalence dans les applications de recherche.

En résumé, la lignée cellulaire humaine de mélanome A375 est un outil essentiel dans l'étude du mélanome humain, offrant un modèle complet pour étudier les mécanismes moléculaires et cellulaires sous-jacents à la progression du mélanome, l'efficacité des agents thérapeutiques et l'interaction entre les cellules cancéreuses et le système immunitaire.

Organism Humain

Tissue Peau

Disease Mélanome

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

Caractéristiques

Age 54 ans

Gender Femme

Morphology De type épithélial

Cellules A375 | 300110

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Citation A375 (numéro de catalogue Cytion 300110)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0132

Données biomoléculaires

Antigen expression P53 positif

Tumorigenic Oui, sur des souris nues

Mutational profile BRAF V600Emut

Karyotype Les cellules A375 se caractérisent par leur caryotype hypotriploïde, avec un nombre modal de chromosomes de 62, et la présence de neuf chromosomes marqueurs dans chaque cellule, mettant en évidence les altérations génétiques associées au mélanome malin.

Manipulation

Culture Medium DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)

Supplements Compléter le milieu avec 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 20 heures

Cellules A375 | 300110

Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Split ratio	Un rapport de 1:3 à 1:8 est recommandé
Seeding density	1×10^4 cellules/cm ² donnera lieu à une monocouche confluente en 4 jours.
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemer les cellules à raison de 4×10^4 cellules/cm ² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 24 heures.
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules A375 | 300110

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules A375 | 300110

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil STR

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

Allèles 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