

## Cellule A375 | 300110

## Informazioni generali

## Description

La linea cellulare di melanoma umano A375, isolata dalla pelle di una paziente di 54 anni affetta da melanoma maligno, è una risorsa significativa nella ricerca sul cancro, in particolare nello studio del melanoma umano, una delle forme più aggressive di cancro della pelle. La linea cellulare A375 è nota per il suo rapido tasso di crescita e l'elevato potenziale tumorigenico, che la rendono adatta a varie applicazioni sperimentali, tra cui studi in vitro sulla proliferazione, migrazione e invasione cellulare, nonché test di tumorigenesi in vivo.

Le cellule A375 mostrano un elevato potenziale tumorigenico nei topi immunosoppressi, formando melanomi amelanotici a crescita rapida. La presenza della mutazione BRAFV600E nelle cellule A375 le rende altamente sensibili all'inibizione della MEK, fornendo uno strumento prezioso per lo studio di terapie mirate nel trattamento del melanoma. Il trattamento delle cellule A375 con vemurafenib, ad esempio, ha dimostrato di potenziare l'induzione delle molecole MHC di classe I e II, offrendo informazioni sulle interazioni tra le cellule del melanoma e il sistema immunitario.

Oltre al loro ruolo nella ricerca di base sul melanoma, le cellule A375 sono utilizzate nello screening dei farmaci e nello studio delle vie di segnalazione coinvolte nella sopravvivenza, proliferazione e metastasi delle cellule tumorali. Le cellule A375 sono state ulteriormente utilizzate negli studi sull'apoptosi e le linee cellulari isogeniche A375 e l'introduzione di proteine reporter come Luc (luc2) consentono lo studio della funzione genica e il monitoraggio delle risposte cellulari in tempo reale. L'idoneità delle cellule A375 come ospite di trasfezione e il loro utilizzo in linee cellulari reporter stabili contribuiscono inoltre alla loro versatilità nelle applicazioni di ricerca.

In sintesi, la linea cellulare di melanoma umano A375 è uno strumento fondamentale nella ricerca sul melanoma umano, offrendo un modello completo per lo studio dei meccanismi molecolari e cellulari alla base della progressione del melanoma, dell'efficacia degli agenti terapeutici e dell'interazione tra le cellule tumorali e il sistema immunitario.

**Organism** Umano

**Tissue** La pelle

**Disease** Melanoma

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

## Caratteristiche

**Age** 54 anni

**Gender** Donna

**Morphology** Simile all'epitelio

## Cellule A375 | 300110

**Growth properties** Aderente

**Dati normativi**

**Citation** A375 (numero di catalogo Cytion 300110)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0132

**Dati biomolecolari**

**Antigen expression** P53 positivo

**Tumorigenic** Sì, in topi nudi

**Mutational profile** BRAF V600Emut

**Karyotype** Le cellule A375 sono caratterizzate da un cariotipo ipotriploide, con un numero modale di cromosomi pari a 62, e dalla presenza di nove cromosomi marcatori in ogni cellula, evidenziando le alterazioni genetiche associate al melanoma maligno.

**Manipolazione**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 20 ore

## Cellule A375 | 300110

<b>Subculturing</b>	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
<b>Split ratio</b>	Si consiglia un rapporto da 1:3 a 1:8
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ cellule/cm <sup>2</sup> darà origine a un monostrato confluento entro 4 giorni.
<b>Fluid renewal</b>	da 2 a 3 volte alla settimana
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Dopo lo scongelamento, piastrare le cellule a $4 \times 10^4$ cellule/cm <sup>2</sup> e lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento e aderiscano per almeno 24 ore.
<b>Freeze medium</b>	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

## Cellule A375 | 300110

### Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera umidificata.

### Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

### Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

## Cellule A375 | 300110

### Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

## Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

### Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

### Profilo STR

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

### Alleli 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