

**Células A375 | 300110****Informações gerais****Description**

A linha celular de melanoma humano A375, isolada da pele de uma paciente de 54 anos com melanoma maligno, é um recurso significativo na investigação do cancro, particularmente no estudo do melanoma humano, uma das formas mais agressivas de cancro da pele. A linha celular A375 é conhecida pela sua rápida taxa de crescimento e elevado potencial tumorigénico, tornando-a adequada para várias aplicações experimentais, incluindo estudos in vitro sobre proliferação, migração e invasão celular, bem como ensaios de tumorigénese in vivo.

As células A375 exibem alto potencial tumorigénico em camundongos imunossuprimidos, formando melanomas amelanóticos de crescimento rápido. A presença da mutação BRAFV600E nas células A375 torna-as altamente sensíveis à inibição da MEK, proporcionando uma ferramenta valiosa para investigar terapias direcionadas no tratamento do melanoma. O tratamento das células A375 com vemurafenibe, por exemplo, demonstrou aumentar a indução das moléculas MHC Classe I e Classe II, oferecendo insights sobre as interações entre as células do melanoma e o sistema imunológico.

Além do seu papel na investigação básica do melanoma, as células A375 são utilizadas na triagem de medicamentos e na investigação de vias de sinalização envolvidas na sobrevivência, proliferação e metástase das células cancerígenas. As células A375 têm sido ainda utilizadas em estudos de apoptose e as linhas celulares isogénicas A375 e a introdução de proteínas repórteres como a Luc (luc2) permitem o estudo da função genética e a monitorização das respostas celulares em tempo real. A adequação das células A375 como hospedeiras de transfecção e a sua utilização em linhas celulares repórteres estáveis também contribuem para a sua versatilidade em aplicações de investigação.

Em resumo, a linha celular de melanoma humano A375 é uma ferramenta fundamental na investigação do melanoma humano, oferecendo um modelo abrangente para o estudo dos mecanismos moleculares e celulares subjacentes à progressão do melanoma, a eficácia dos agentes terapêuticos e a interação entre as células cancerígenas e o sistema imunitário.

**Organism** Humano**Tissue** Pele**Disease** Melanoma**Synonyms** A 375, A-375, A375-MEL, A375-mel, A375mel**Caraterísticas****Age** 54 anos**Gender** Feminino**Morphology** De tipo epitelial

**Células A375 | 300110**

**Growth properties** Aderente

**Dados regulamentares**

**Citation** A375 (número de catálogo Cytion 300110)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0132

**Dados biomoleculares**

**Antigen expression** P53 positivo

**Tumorigenic** Sim, em ratinhos nus

**Mutational profile** BRAF V600Emut

**Karyotype** As células A375 caracterizam-se pelo seu cariótipo hipotriplóide, com um número cromossômico modal de 62, e pela presença de nove cromossomas marcadores em cada célula, evidenciando as alterações genéticas associadas ao melanoma maligno.

**Manuseamento**

**Culture Medium** DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 20 horas

## Células A375 | 300110

**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> resultará numa monocamada confluyente em 4 dias.

**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

**Post-Thaw Recovery** Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de  $4 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup> e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células A375 | 300110

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células A375 | 300110

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

### 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