

## Celule A375 | 300110

## Informații generale

## Description

Linia celulară A375 de melanom uman, izolată din pielea unei paciente în vârstă de 54 de ani cu melanom malign, este o resursă importantă în cercetarea cancerului, în special în studiul melanomului uman, una dintre cele mai agresive forme de cancer de piele. Linia celulară A375 este cunoscută pentru rata sa rapidă de creștere și potențialul tumorigen ridicat, ceea ce o face potrivită pentru diverse aplicații experimentale, inclusiv studii in vitro privind proliferarea, migrația și invazia celulară, precum și teste de tumorigeneză in vivo.

Celulele A375 prezintă un potențial tumorigen ridicat la șoarecii imunosuprimați, formând melanomuri amelanotice cu creștere rapidă. Prezența mutației BRAFV600E în celulele A375 le face foarte sensibile la inhibarea MEK, oferind un instrument valoros pentru investigarea terapiilor țintite în tratamentul melanomului. Tratamentul celulelor A375 cu vemurafenib, de exemplu, s-a dovedit a spori inducerea moleculelor MHC de clasa I și clasa II, oferind informații despre interacțiunile dintre celulele melanomului și sistemul imunitar.

În plus față de rolul lor în cercetarea de bază a melanomului, celulele A375 sunt utilizate în screeningul medicamentelor și în investigarea căilor de semnalizare implicate în supraviețuirea, proliferarea și metastazarea celulelor canceroase. Celulele A375 au fost utilizate în continuare în studiile privind apoptoza, iar liniile celulare izogene A375 și introducerea proteinelor reporter precum Luc (luc2) permit studierea funcției genelor și monitorizarea răspunsurilor celulare în timp real. Adecvarea celulelor A375 ca gazdă de transfecție și utilizarea lor în linii celulare reporter stabile contribuie, de asemenea, la versatilitatea lor în aplicațiile de cercetare.

În concluzie, linia celulară de melanom uman A375 este un instrument esențial în investigarea melanomului uman, oferind un model cuprinzător pentru studierea mecanismelor moleculare și celulare care stau la baza progresiei melanomului, a eficacității agenților terapeutici și a interacțiunii dintre celulele canceroase și sistemul imunitar.

**Organism** Om

**Tissue** Piele

**Disease** Melanom

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

## Caracteristici

**Age** 54 de ani

**Gender** Femei

**Morphology** De tip epitelial

**Growth properties** Aderent

## Celule A375 | 300110

## Date de reglementare

<b>Citation</b>	A375 (număr de catalog Cytion 300110)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_0132

## Date biomoleculare

<b>Antigen expression</b>	P53 pozitiv
<b>Tumorigenic</b>	Da, la șoareci nude
<b>Mutational profile</b>	BRAF V600Emut
<b>Karyotype</b>	Celulele A375 se caracterizează prin cariotipul lor hipotriploid, cu un număr modal de cromozomi de 62, și prin prezența a nouă cromozomi marker în fiecare celulă, evidențiind alterările genetice asociate melanomului malign.

## Manipulare

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Suplimentați mediul cu 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	20 de ore
<b>Subculturing</b>	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

**Celule A375 | 300110**

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  celule/cm<sup>2</sup> va duce la formarea unui strat unic confluent în termen de 4 zile.

**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână

**Post-Thaw Recovery** După decongelare, plasați celulele la  $4 \times 10^4$  celule/cm<sup>2</sup> și lăsați-le să se recupereze după procesul de congelare și să adere timp de cel puțin 24 de ore.

**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

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

## Celule A375 | 300110

**Flask Coating** Niciuna

### Freezing Procedure

Linile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

### Shipping Conditions

Linile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

### Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

## Controlul calității / Profil genetic / HLA

### Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

### Alele 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