Product sheet

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, particularmente en el estudio del melanoma humano, una de las formas más agresivas de cáncer de piel. La línea celular A375 se caracteriza por su rápida tasa de crecimiento y su alto potencial tumorigénico, lo que la hace adecuada para diversas aplicaciones experimentales, incluyendo 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 crecimiento rápido. La presencia de la mutación BRAFV600E en las células A375 las hace altamente 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 potencia la inducción de moléculas del MHC de clase I y clase II, lo que ofrece información sobre las interacciones entre las células de melanoma y el sistema inmunológico. Además de su papel en la investigación básica del melanoma, las células A375 se utilizan en el cribado de fármacos y en la investigación de las vías de señalización involucradas en la supervivencia, la proliferación y la metástasis de las células cancerosas. Las células A375 también se han utilizado en estudios de apoptosis; además, las líneas celulares isogénicas A375 y la introducción de proteínas informadoras como Luc (luc2) permiten estudiar la función génica y monitorear las respuestas celulares en tiempo real. La idoneidad de las células A375 como huésped 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 integral 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 inmunológico.
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 normativos

Citation	A375 (número de catálogo de Cytion 300110)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0132

Datos biomoleculares

Antigen expression	Positivo para P53
Tumorigenic	Sí, en ratones desnudos
Mutational profile	Mutación BRAF V600E
Karyotype	Las células A375 se caracterizan por su cariotipo hipotriploide, con un número modal de cromosomas de 62, y la presencia de nueve cromosomas marcadores en cada célula, lo que pone de relieve las alteraciones genéticas asociadas al melanoma maligno.

Manejo

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)
Supplements	Añade al medio un 10 % de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20 horas

Células A375 | 300110

Subculturing	Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspendarlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfiéralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.
Seeding density	1 x 10^4 células/cm^2 dará como resultado una monocapa confluente en un plazo de 4 días.
Fluid renewal	De 2 a 3 veces por semana
Post-Thaw Recovery	Después de descongelarlas, siembre las células a una densidad de 4 × 10^4 células/cm^2 y deje que se recuperen del proceso de congelación y se adhieran durante al menos 24 horas.
Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un 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 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrífuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiere todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente −78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre −150 y −196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a −80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility	Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia. Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.