Product sheet

Cellules A375 | 300110

Renseignements généraux

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 dans 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 fort potentiel tumorigène, 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 essais de tumorigénèse in vivo. Les cellules A375 présentent un fort potentiel tumorigène 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 MEK, ce qui en fait un outil précieux pour l'étude des thérapies ciblées dans le traitement du mélanome. Il a par exemple été démontré que le traitement des cellules A375 par le vémurafénib améliore l'induction des molécules du CMH de classe I et de classe II, ce qui permet de mieux comprendre les interactions entre les cellules de mélanome 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; 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. Le fait que les cellules A375 conviennent comme hôtes 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 de mélanome humain A375 est un outil essentiel dans l'étude du mélanome humain, offrant un modèle complet pour l'étude des mécanismes moléculaires et cellulaires sous-jacents à la progression du mélanome, de l'efficacité des agents thérapeutiques et de 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	Adepte

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, chez les souris nues
Mutational profile	Mutation BRAF V600E
Karyotype	Les cellules A375 se caractérisent par leur caryotype hypotriploïde, avec un nombre modal de chromosomes de 62, et par la présence de neuf chromosomes marqueurs dans chaque cellule, ce qui met en évidence les altérations génétiques associées au mélanome malin.

Manipulation

Culture Medium	DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)
Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20 heures

Cellules A375 | 300110

Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Seeding density	Une densité de 1×10^4 cellules/cm² permettra d'obtenir une monocouche confluente en 4 jours.
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Post-Thaw Recovery	Après décongélation, ensemencer les cellules à une densité de 4×10^4 cellules/cm² 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 (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.

4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.

8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

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

Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.