Product sheet

Células A375 | 300110

Informações gerais

Description	A linhagem celular de melanoma humano A375, isolada da pele de uma paciente de 54 anos com melanoma maligno, é um recurso significativo na pesquisa sobre o câncer, particularmente no estudo do melanoma humano, uma das formas mais agressivas de câncer de pele. A linhagem celular A375 é conhecida por sua rápida taxa de crescimento e alto potencial tumorigênico, o que a torna adequada para diversas aplicações experimentais, incluindo estudos in vitro sobre proliferação, migração e invasão celular, bem como ensaios de tumorigênese in vivo. As células A375 apresentam alto potencial tumorigênico 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 a investigação de terapias direcionadas no tratamento do melanoma. O tratamento das células A375 com vemurafenibe, por exemplo, demonstrou aumentar a indução de moléculas do MHC de Classe I e Classe II, oferecendo insights sobre as interações entre as células de melanoma e o sistema imunológico. Além de seu papel na pesquisa básica sobre o 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 cancerosas. As células A375 têm sido utilizadas também em estudos de apoptose; além disso, as linhagens celulares isogênicas A375 e a introdução de proteínas repórteres como a Luc (luc2) permitem o estudo da função gênica e o monitoramento das respostas celulares em tempo real. A adequação das células A375 como hospedeiras de transfecção e seu uso em linhagens celulares repórteres estáveis também contribuem para sua versatilidade em aplicações de pesquisa. Em resumo, a linhagem 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, à eficácia de agentes terapêuticos e à interação entre as células cancerosas e o sistema imunológico.
Organism	Humano
Tissue	Pele
Disease	Melanoma
Synonyms	A 375, A-375, A375-MEL, A375-mel, A375mel

Características

Age	54 anos
Gender	Mulher
Morphology	De tipo epitelial

Células A375 | 300110

Growth properties	Aderente

Dados regulatórios

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

Dados biomoleculares

Antigen expression	P53 positivo
Tumorigenic	Sim, em camundongos nude
Mutational profile	Mutação BRAF V600E
Karyotype	As células A375 são caracterizadas por seu cariótipo hipotriploide, com um número modal de cromossomos de 62, e pela presença de nove cromossomos marcadores em cada célula, o que destaca as alterações genéticas associadas ao melanoma maligno.

Manuseio

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)
Supplements	Adicione 10% de FBS ao meio
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	20 horas

Células A375 | 300110

Subculturing	Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.
Seeding density	1 x 10^4 células/cm² resultará em uma monocamada confluente em 4 dias.
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Post-Thaw Recovery	Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de 4 x 10^4 células/cm^2 e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se adiram por pelo menos 24 horas.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells	1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte. 2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata. 3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo. 4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo. 5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente. 6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual. 7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes. 8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.
Shipping Conditions	As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células A375 | 300110

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.