A375-GFP

305665

INFORMACIÓN GENERAL

Descripción

A375-GFP es una variante modificada genéticamente de la línea celular A375 de melanoma maligno humano, que expresa de forma estable la proteína fluorescente verde mejorada (eGFP). La línea celular parental A375 se deriva de un tumor de melanoma cutáneo de un paciente adulto y se utiliza ampliamente como modelo de melanoma cutáneo, especialmente en estudios relacionados con la señalización oncogénica de BRAF, ya que presenta la mutación BRAF V600E. Esta mutación provoca la activación constitutiva de la vía MAPK/ERK, lo que impulsa la proliferación y la supervivencia, y hace que las células A375 sean muy relevantes para investigar terapias dirigidas, como los inhibidores de BRAF y MEK. La variante que expresa GFP conserva estas características moleculares y fenotípicas, al tiempo que permite aplicaciones basadas en la fluorescencia.
La incorporación estable del reportero eGFP permite la visualización en tiempo real de las células A375-GFP tanto en sistemas in vitro como in vivo. La obtención de imágenes por fluorescencia facilita el seguimiento de la proliferación, la migración, la invasión y los cambios morfológicos de las células, así como el seguimiento del crecimiento tumoral y la diseminación metastásica en modelos de xenoinjertos. La variante mejorada de GFP ofrece mayor brillo y estabilidad en comparación con construcciones de GFP anteriores, lo que permite una detección sensible incluso con un número reducido de células. Esto hace que A375-GFP resulte especialmente útil en experimentos de cocultivo, plataformas de imagen de alto contenido y estudios que requieran una resolución espacial precisa del comportamiento de las células tumorales.
La línea A375-GFP conserva el fenotipo agresivo y proliferativo de la línea parental de melanoma, incluida la respuesta a los inhibidores de la vía MAPK y la capacidad de invasión y metástasis en modelos experimentales. La incorporación de la GFP amplía su utilidad para el cribado de fármacos, la obtención de imágenes de células vivas y los estudios sobre la interacción entre el tumor y el microambiente. Al igual que con otras líneas celulares marcadas con reporteros, se recomienda validar la estabilidad y la consistencia de la fluorescencia a lo largo de los pases para aplicaciones experimentales específicas.
Modificación genética: Modificada de forma estable mediante transducción con lentivirus incompetente para la replicación para expresar el reportero de proteína fluorescente verde ZsGreen1; se mantiene como una población policlonal bajo selección con puromicina (1-5 µg/mL). Contención S1/BSL-1.

Pañuelo de papel	Pierna, piel
Enfermedad	Melanoma amelanótico

CLASIFICACIÓN

Organismo	Humano
Sexo	Mujer
Propiedades de crecimiento	Adherente
Situación respecto a los OMG	GMO-S1

Detalles sobre la presencia de OMG

GMO-S1: This cell line contains a stably integrated ZsGreen1 green fluorescent protein reporter introduced via replication-incompetent lentiviral transduction. The resulting polyclonal cell population was maintained under puromycin selection (1–5 µg/mL). S1 containment is required. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Nivel de bioseguridad	1

IDENTIFICADORES

Referencia

A375-GFP (número de catálogo de Cytion: 305665)

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

N.º de identificación fiscal del NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_QZ67

EXPRESIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD

Expresión de antígenos

ZsGreen1 (proteína fluorescente verde)

Perfil mutacional

Mutación: BRAF, simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), homocigótica (procedente de la línea celular parental).Mutación, CDKN2A, simple, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homocigótica (procedente de la línea celular parental).Mutación, CDKN2A, simple, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homocigótica (procedente de la línea celular parental).Mutación, TERT, simple, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), sin especificar, nota = en el promotor (procedente de la línea celular parental).

MANEJO Y CULTIVO

Medio de cultivo

DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO3, w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)

Atmósfera de incubación	37°C, 5%CO2, atmósfera humidificada.

Suplementos

Complementar el medio con un 10% de FBS

Reactivo de disociación	Accutase

Subcultivo

Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.

Densidad de siembra	De 1 a 3 x 10^4 células/cm^2
Renovación de fluidos	de 2 a 3 veces por semana

Descongelación y cultivo

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 200 x g for 5 minutes, carefully discard the supernatant containing freezing medium.
Follow the procedure described under Post-Thaw Recovery

CONTROL DE CALIDAD Y CRIOPRESERVACIÓN

Medio de congelación	Como medio de criopreservación, utilizamos medio de crecimiento completo + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación.

Condiciones de almacenamiento

Para la conservación a largo plazo, colocar los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Condiciones de envío

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

DONANTE

Edad del donante	54 años
Origen étnico	Caucásico

ASPECTOS LEGALES Y DE SEGURIDAD

Medidas de seguridad

Cuando se planea almacenar un criovial en nitrógeno líquido para su futura descongelación, es obligatorio cumplir estrictas medidas de seguridad. Es esencial utilizar guantes y ropa de protección adecuados, así como una mascarilla o gafas de seguridad durante el traslado de muestras congeladas desde o hacia el tanque de nitrógeno líquido. Con ello se pretende mitigar el riesgo de lesiones por posibles explosiones crioviales al extraerlas, que pueden dar lugar a la proyección de fragmentos afilados.

Garantía

En Cytion, respaldamos la calidad y viabilidad de nuestros productos.
Garantizamos que nuestras células serán viables al inicio del cultivo durante los 60 días posteriores al envío desde nuestras instalaciones.
Aseguramos que todos los materiales se ajustan a las especificaciones descritas en el Certificado de Análisis y/o Hoja de Producto
Para más información, consulte nuestra <a href=""/Quiénes somos/Garantía/"" hreflang=""x-default"">Declaración de garantía

Se requiere un acuerdo de transferencia de material	Yes