A375-GFP

305665

GENERAL INFORMATION

Description

A375-GFP es una variante modificada genéticamente de la línea celular A375 de melanoma maligno humano, que expresa de manera estable la proteína fluorescente verde mejorada (eGFP). La línea celular parental A375 se deriva de un tumor de melanoma cutáneo en un paciente adulto y se utiliza ampliamente como modelo para el melanoma cutáneo, particularmente para estudios relacionados con la señalización oncogénica de BRAF, ya que presenta la mutación BRAF V600E. Esta mutación conduce a la activación constitutiva de la vía MAPK/ERK, lo que impulsa la proliferación y la supervivencia, y hace que las células A375 sean altamente relevantes para investigar terapias dirigidas, tales 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. Las imágenes de fluorescencia facilitan el monitoreo de la proliferación, migración, invasión y 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 anteriores de GFP, lo que permite una detección sensible incluso con un número reducido de células. Esto hace que A375-GFP sea particularmente útil en experimentos de cocultivo, plataformas de imágenes de alto contenido y estudios que requieren 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 de interacción entre el tumor y el microambiente. Al igual que con otras líneas celulares marcadas con reporteros, se recomienda validar la estabilidad y consistencia de la fluorescencia a lo largo de los pases para aplicaciones experimentales específicas.
Modificación genética: Modificada de manera estable mediante transducción lentiviral incompetente para la replicación a fin de 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.

Tissue	Pierna, piel
Disease	Melanoma amelanótico

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Female
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

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.

Biosafety level	1

IDENTIFIERS

Citation

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

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_QZ67

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Antigen expression

ZsGreen1 (proteína fluorescente verde)

Mutational profile

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), no especificada, nota = en el promotor (procedente de la línea celular parental).

HANDLING AND CULTURE

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)

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

Supplements

Añade al medio un 10 % de FBS

Dissociation reagent	Accutase

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	De 1 a 3 × 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	De 2 a 3 veces por semana

Thawing and culturing

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

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo con un 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación.

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.

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.

DONOR

Donor age	54 años
Ethnicity	caucásico

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Cuando se planea almacenar un criovial en nitrógeno líquido para su descongelación futura, es obligatorio cumplir con estrictas medidas de seguridad. Es esencial contar con guantes y ropa de protección adecuados, y se requiere el uso de una mascarilla o lentes de seguridad durante la transferencia de muestras congeladas hacia o desde el tanque de nitrógeno líquido. Esto tiene como objetivo mitigar el riesgo de lesiones por posibles explosiones de los criotubos al retirarlos, lo que puede provocar la proyección de fragmentos afilados.

Warranty

En Cytion, respaldamos la calidad y la viabilidad de nuestros productos.
Garantizamos que nuestras células serán viables al inicio del cultivo durante
60 días a partir de la fecha de envío desde nuestras instalaciones.
Aseguramos que todos los materiales cumplen con las especificaciones descritas en el
Certificado de Análisis y/o la Ficha del Producto.
Para obtener más detalles, consulte nuestra
Declaración de garantía.

Material Transfer Agreement required	Yes