A375-GFP

305665

INFORMATIONS GÉNÉRALES

Description

La lignée A375-GFP est une variante génétiquement modifiée de la lignée cellulaire A375 de mélanome malin humain, qui exprime de manière stable la protéine fluorescente verte améliorée (eGFP). La lignée cellulaire parentale A375 est issue d'un mélanome cutané chez un patient adulte et est largement utilisée comme modèle de mélanome cutané, en particulier pour les études portant sur la voie de signalisation oncogénique BRAF, car elle porte la mutation BRAF V600E. Cette mutation entraîne une activation constitutive de la voie MAPK/ERK, favorisant la prolifération et la survie des cellules, ce qui rend les cellules A375 particulièrement pertinentes pour l'étude de thérapies ciblées telles que les inhibiteurs de BRAF et de MEK. La lignée dérivée exprimant la GFP conserve ces caractéristiques moléculaires et phénotypiques tout en permettant des applications basées sur la fluorescence.
L'incorporation stable du rapporteur eGFP permet la visualisation en temps réel des cellules A375-GFP aussi bien dans des systèmes in vitro qu'in vivo. L'imagerie par fluorescence facilite le suivi de la prolifération, de la migration, de l'invasion et des changements morphologiques des cellules, ainsi que le suivi de la croissance tumorale et de la dissémination métastatique dans des modèles de xénogreffes. Cette variante améliorée de la GFP offre une luminosité et une stabilité accrues par rapport aux constructions GFP antérieures, permettant une détection sensible même à de faibles nombres de cellules. Cela rend la lignée A375-GFP particulièrement utile dans les expériences de co-culture, les plateformes d'imagerie à haut contenu et les études nécessitant une résolution spatiale précise du comportement des cellules tumorales.
La lignée A375-GFP conserve le phénotype agressif et prolifératif de la lignée parentale de mélanome, y compris la réactivité aux inhibiteurs de la voie MAPK et la capacité d'invasion et de métastase dans les modèles expérimentaux. L'ajout de la GFP élargit son champ d'application au criblage de médicaments, à l'imagerie de cellules vivantes et aux études sur les interactions entre la tumeur et son microenvironnement. Comme pour les autres lignées cellulaires marquées par un rapporteur, il est recommandé de vérifier la stabilité et la cohérence de la fluorescence au fil des passages pour des applications expérimentales spécifiques.
Modification génétique : modifiée de manière stable par transduction lentivirale à réplication incompétente pour exprimer le rapporteur protéique fluorescent vert ZsGreen1 ; maintenue sous forme de population polyclonale sous sélection à la puromycine (1–5 µg/mL). Confinement S1/BSL-1.

Tissu	Jambe, peau
Maladie	Mélanome amélanotique

CLASSIFICATION

Organisme	Humain
Sexe	Femme
Propriétés de croissance	Adepte
Statut OGM	GMO-S1

Informations détaillées sur le statut OGM

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.

Niveau de biosécurité	1

IDENTIFIANTS

Référence

A375-GFP (référence 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

Numéro d'identification fiscale NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_QZ67

EXPRESSION ET SENSIBILITÉ

Expression des antigènes

ZsGreen1 (protéine fluorescente verte)

Profil mutationnel

Mutation : BRAF, simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozygote (provenant de la lignée cellulaire parentale).Mutation, CDKN2A, simple, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozygote (provenant de la lignée cellulaire parentale).Mutation, CDKN2A, simple, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozygote (provenant de la lignée cellulaire parentale).Mutation, TERT, simple, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), non spécifiée, remarque = dans le promoteur (provenant de la lignée cellulaire parentale).

MANIPULATION ET CULTURE

Milieu de culture

DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO3, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)

Atmosphère d'incubation	37°C, 5%CO2, atmosphère humidifiée.

Compléments alimentaires

Compléter le milieu avec 10% de FBS

Réactif de dissociation	Accutase

Repiquage

Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Densité de semis	1 à 3 x 10^4 cellules/cm^2
Renouvellement des fluides	2 à 3 fois par semaine

Décongélation et mise en culture

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

CONTRÔLE QUALITÉ ET CRYOCONSERVATION

Milieu de congélation	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation.

Conditions de stockage

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Conditions de livraison

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

DONATEUR

Âge du donneur	54 ans
Origine ethnique	Caucasien

ASPECTS JURIDIQUES ET SÉCURITÉ

Consignes de sécurité

Lorsque l'on envisage de stocker un cryovial dans l'azote liquide en vue d'une décongélation ultérieure, il est obligatoire de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Des gants et des vêtements de protection appropriés sont indispensables, et l'utilisation d'un masque facial ou de lunettes de sécurité est requise pendant le transfert des échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d'azote liquide. Ceci afin de réduire le risque de blessures dues à l'explosion potentielle des cryoviaux lors de leur retrait, qui peut entraîner la projection de fragments tranchants.

Garantie

Chez Cytion, nous nous portons garants de la qualité et de la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours après l'expédition de nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d'analyse et/ou la fiche produit
Pour plus de détails, veuillez consulter notre <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default""> Déclaration de garantie

Un accord de transfert de matériel est requis	Yes