A375-GFP

305665

GENERAL INFORMATION

Description

La lignée cellulaire 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 dérivée 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. La 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 valider la stabilité et la cohérence de la fluorescence au fil des passages pour des applications expérimentales spécifiques.
Modification génétique : Modifiée de façon stable par transduction lentivirale à réplication incompétente pour exprimer le rapporteur protéique ZsGreen1 à fluorescence verte; maintenue sous forme de population polyclonale sous sélection à la puromycine (1 à 5 µg/mL). Confinement S1/BSL-1.

Tissue	Jambe, peau
Disease	Mélanome amélanotique

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 (numéro de catalogue 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 (protéine fluorescente verte)

Mutational profile

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 parente).Mutation, CDKN2A, simple, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozygote (provenant de la lignée cellulaire parente).Mutation, TERT, simple, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), non précisée, remarque = dans le promoteur (provenant de la lignée cellulaire parentale).

HANDLING AND CULTURE

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)

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

Supplements

Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture

Dissociation reagent	Accutase

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	de 1 à 3 × 10^4 cellules/cm^2
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine

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	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet additionné de 10 % de DMSO afin d'assurer une viabilité adéquate après décongélation.

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.

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.

DONOR

Donor age	54 ans
Ethnicity	caucasien

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Lorsqu’on prévoit entreposer un cryotube dans de l’azote liquide en vue d’une décongélation ultérieure, il est impératif de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Le port de gants et de vêtements de protection appropriés est essentiel, et l’utilisation d’un masque facial ou de lunettes de protection est obligatoire lors du transfert d’échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d’azote liquide. Cette précaution vise à réduire le risque de blessure causé par d’éventuelles explosions de cryotubes lors de leur retrait, pouvant entraîner la projection de fragments coupants.

Warranty

Chez Cytion, nous garantissons la qualité et la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours à compter de leur expédition depuis nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d’analyse et/ou la fiche technique du produit.
Pour plus de détails, veuillez consulter notre déclaration de garantie.

Material Transfer Agreement required	Yes

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