A375-GFP

305665

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

A375-GFP é uma variante geneticamente modificada da linha celular A375 de melanoma maligno humano, que expressa de forma estável a proteína fluorescente verde melhorada (eGFP). A linha celular parental A375 é derivada de um tumor de melanoma cutâneo num doente adulto e é amplamente utilizada como modelo para o melanoma cutâneo, particularmente em estudos que envolvem a sinalização oncogénica do BRAF, uma vez que apresenta a mutação BRAF V600E. Esta mutação conduz à ativação constitutiva da via MAPK/ERK, impulsionando a proliferação e a sobrevivência, e tornando as células A375 altamente relevantes para a investigação de terapias direcionadas, tais como os inibidores de BRAF e MEK. O derivado que expressa GFP mantém estas características moleculares e fenotípicas, permitindo simultaneamente aplicações baseadas na fluorescência.
A incorporação estável do repórter eGFP permite a visualização em tempo real das células A375-GFP tanto em sistemas in vitro como in vivo. A imagiologia por fluorescência facilita a monitorização da proliferação, migração, invasão e alterações morfológicas das células, bem como o acompanhamento do crescimento tumoral e da disseminação metastática em modelos de xenoenxertos. A variante melhorada da GFP proporciona maior brilho e estabilidade em comparação com construções anteriores de GFP, permitindo uma deteção sensível mesmo com baixos números de células. Isto torna a A375-GFP particularmente útil em experiências de cocultura, plataformas de imagiologia de alto conteúdo e estudos que requerem uma resolução espacial precisa do comportamento das células tumorais.
A375-GFP mantém o fenótipo agressivo e proliferativo da linha parental de melanoma, incluindo a resposta aos inibidores da via MAPK e a capacidade de invasão e metástase em modelos experimentais. A adição de GFP alarga a sua utilidade para o rastreio de fármacos, a imagiologia de células vivas e estudos sobre a interação entre o tumor e o microambiente. Tal como acontece com outras linhas celulares marcadas com repórteres, recomenda-se a validação da estabilidade e consistência da fluorescência ao longo das passagens para aplicações experimentais específicas.
Modificação genética: Modificada de forma estável por transdução lentiviral incompetente para replicação, de modo a expressar o repórter da proteína fluorescente verde ZsGreen1; mantida como uma população policlonal sob seleção com puromicina (1–5 µg/mL). Nível de contenção S1/BSL-1.

Tecido	Perna, pele
Doença	Melanoma amelanótico

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Humano
Sexo	Feminino
Propriedades de crescimento	Aderente
Estatuto em matéria de OGM	GMO-S1

Detalhes sobre o estatuto dos 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.

Nível de biossegurança	1

IDENTIFICADORES

Referência

A375-GFP (número de catálogo da 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

Número de identificação fiscal do NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_QZ67

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Expressão do antígeno

ZsGreen1 (proteína fluorescente verde)

Perfil mutacional

Mutação: BRAF, simples, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozigótica (proveniente da linha celular parental).Mutação, CDKN2A, Simples, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), Homozigótica (da linha celular parental).Mutação, CDKN2A, Simples, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), Homozigótica (da linha celular parental).Mutação, TERT, Simples, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), Não especificada, Nota=No promotor (da linha celular parental).

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO3, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.

Suplementos

Completar o meio com 10% de FBS

Reagente de dissociação	Accutase

Subcultura

Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Densidade de sementeira	1 a 3 x 10^4 células/cm^2
Renovação de fluidos	2 a 3 vezes por semana

Descongelamento e cultura

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

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

Meio de congelação	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo + 10% de DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada.

Condições de armazenamento

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Condições de envio

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

DOADOR

Idade do dador	54 anos
Etnia	Caucasiano

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

É necessário um Acordo de Transferência de Material	Yes