A375-GFP

305665

GENERAL INFORMATION

Description

A375-GFP é uma variante geneticamente modificada da linhagem celular A375 de melanoma maligno humano, que expressa de forma estável a proteína fluorescente verde aprimorada (eGFP). A linhagem celular parental A375 é derivada de um tumor de melanoma cutâneo em um paciente adulto e é amplamente utilizada como modelo para o melanoma cutâneo, particularmente para estudos envolvendo a sinalização oncogênica do BRAF, uma vez que abriga a mutação BRAF V600E. Essa mutação leva à ativação constitutiva da via MAPK/ERK, promovendo a proliferação e a sobrevivência, e tornando as células A375 altamente relevantes para a investigação de terapias direcionadas, como inibidores de BRAF e MEK. A variante que expressa GFP mantém essas características moleculares e fenotípicas, ao mesmo tempo em que permite aplicações baseadas em fluorescência.
A incorporação estável do repórter eGFP permite a visualização em tempo real das células A375-GFP tanto em sistemas in vitro quanto in vivo. A imagem por fluorescência facilita o monitoramento 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 aprimorada da GFP oferece maior brilho e estabilidade em comparação com construções anteriores de GFP, permitindo detecção sensível mesmo com baixos números de células. Isso torna a A375-GFP particularmente útil em experimentos de cocultura, plataformas de imagem de alto conteúdo e estudos que exigem resolução espacial precisa do comportamento das células tumorais.
A375-GFP mantém o fenótipo agressivo e proliferativo da linhagem parental de melanoma, incluindo a responsividade a inibidores da via MAPK e a capacidade de invasão e metástase em modelos experimentais. A adição da GFP amplia sua utilidade para triagem de medicamentos, imagem de células vivas e estudos de interação entre o tumor e o microambiente. Assim como em outras linhagens celulares marcadas com repórter, 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, a fim de expressar o repórter da proteína fluorescente verde ZsGreen1; mantida como uma população policlonal sob seleção com puromicina (1–5 µg/mL). Contenção S1/BSL-1.

Tissue	Perna, pele
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 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

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_QZ67

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Antigen expression

ZsGreen1 (proteína fluorescente verde)

Mutational profile

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

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

Supplements

Adicione 10% de FBS ao meio

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density	1 a 3 × 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 a 3 vezes 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 meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo + 10% de DMSO para garantir uma viabilidade adequada após o descongelamento.

Storage conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Shipping conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

DONOR

Donor age	54 anos
Ethnicity	caucasiano

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão 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 na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Material Transfer Agreement required	Yes