# A375-GFP

305665

## GENERAL INFORMATION

### Description

A375-GFP là một biến thể được biến đổi gen từ dòng tế bào u hắc tố ác tính ở người A375, biểu hiện ổn định protein huỳnh quang xanh tăng cường (eGFP). Dòng tế bào A375 gốc được phân lập từ khối u u hắc tố da của một bệnh nhân người lớn và được sử dụng rộng rãi làm mô hình cho u hắc tố da, đặc biệt là trong các nghiên cứu liên quan đến tín hiệu BRAF gây ung thư, do nó mang đột biến BRAF V600E. Đột biến này dẫn đến sự kích hoạt liên tục của con đường tín hiệu MAPK/ERK, thúc đẩy sự tăng sinh và sự sống còn của tế bào, khiến các tế bào A375 trở nên rất phù hợp để nghiên cứu các liệu pháp nhắm mục tiêu như chất ức chế BRAF và MEK. Biến thể biểu hiện GFP này vẫn giữ nguyên các đặc tính phân tử và hình thái học đó đồng thời cho phép thực hiện các ứng dụng dựa trên huỳnh quang.
Việc tích hợp ổn định báo cáo eGFP cho phép quan sát theo thời gian thực các tế bào A375-GFP trong cả hệ thống in vitro và in vivo. Hình ảnh huỳnh quang hỗ trợ theo dõi sự tăng sinh, di chuyển, xâm lấn và thay đổi hình thái của tế bào, cũng như theo dõi sự phát triển khối u và sự lan rộng di căn trong các mô hình cấy ghép dị chủng. Biến thể GFP được cải tiến mang lại độ sáng và độ ổn định cao hơn so với các cấu trúc GFP trước đây, cho phép phát hiện nhạy cảm ngay cả khi số lượng tế bào thấp. Điều này khiến A375-GFP đặc biệt hữu ích trong các thí nghiệm đồng nuôi cấy, nền tảng hình ảnh nội dung cao và các nghiên cứu yêu cầu độ phân giải không gian chính xác về hành vi của tế bào khối u.
A375-GFP duy trì kiểu hình xâm lấn và tăng sinh của dòng tế bào u hắc tố gốc, bao gồm khả năng đáp ứng với các chất ức chế con đường MAPK cũng như khả năng xâm lấn và di căn trong các mô hình thí nghiệm. Việc bổ sung GFP mở rộng tính ứng dụng của dòng tế bào này cho sàng lọc thuốc, hình ảnh tế bào sống và các nghiên cứu về tương tác giữa khối u và vi môi trường. Giống như các dòng tế bào được gắn báo hiệu khác, việc xác nhận độ ổn định và tính nhất quán của huỳnh quang qua các lần nhân giống được khuyến nghị cho các ứng dụng thí nghiệm cụ thể.
Sửa đổi di truyền: Được sửa đổi ổn định bằng phương pháp truyền lentivirus không có khả năng nhân lên để biểu hiện protein báo hiệu huỳnh quang xanh ZsGreen1; được duy trì dưới dạng quần thể đa dòng dưới sự chọn lọc bằng puromycin (1–5 µg/mL). Mức độ an toàn S1/BSL-1.

| | |
|---|---|
| **Tissue** | Chân, da |
| **Disease** | Ung thư hắc tố không có sắc tố |

## 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 (mã sản phẩm Cytion 305665)

| | |
|---|---|
| **NCBI TaxID** | 9606 |

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

| | |
|---|---|
| **Cellosaurus** | CVCL_QZ67 |

## EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

### Antigen expression

ZsGreen1 (protein huỳnh quang màu xanh lá cây)

### Mutational profile

Đột biến: BRAF, Đơn giản, p.Val600Glu (c.1799T>A), Đồng hợp tử (từ dòng tế bào gốc).Đột biến, CDKN2A, Đơn giản, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), Đồng hợp tử (từ dòng tế bào gốc).Đột biến, CDKN2A, Đơn giản, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), Đồng hợp tử (từ dòng tế bào mẹ).Đột biến, TERT, Đơn giản, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), Không xác định, Ghi chú=Trong vùng khởi động (từ dòng tế bào gốc).

## HANDLING AND CULTURE

### Culture medium

DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L $NaHCO_3$, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)

| | |
|---|---|
| **Incubation atmosphere** | 37°C, 5%$CO_2$, môi trường ẩm. |

### Supplements

Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy

| | |
|---|---|
| **Dissociation reagent** | Accutase |

### Subculturing

Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

| | |
|---|---|
| **Seeding density** | 1 đến 3 × $10^4$ tế bào/$cm^2$ |
| **Fluid renewal** | 2 đến 3 lần mỗi tuần |

### 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** | Với tư cách là môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sót sau khi rã đông. |

### Storage conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng −150 đến −196 °C. Việc bảo quản ở −80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

### Shipping conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng −78 °C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

## DONOR

| | |
|---|---|
| **Donor age** | 54 năm |
| **Ethnicity** | Người da trắng |

## LEGAL AND SAFETY

### Safety precautions

Khi lập kế hoạch lưu trữ ống cryovial trong nitơ lỏng để rã đông sau này, việc tuân thủ các biện pháp an toàn nghiêm ngặt là bắt buộc. Găng tay và quần áo bảo hộ phù hợp là điều cần thiết, và việc sử dụng khẩu trang hoặc kính bảo hộ là bắt buộc trong quá trình chuyển mẫu đông lạnh vào hoặc ra khỏi bể nitơ lỏng. Điều này nhằm giảm thiểu nguy cơ chấn thương do nổ ống cryovial khi lấy ra, có thể dẫn đến việc văng ra các mảnh vỡ sắc nhọn.

### Warranty

Tại Cytion, chúng tôi cam kết về chất lượng và khả năng sống của các sản phẩm của mình.
Chúng tôi đảm bảo rằng các tế bào của chúng tôi sẽ có khả năng sống tại thời điểm bắt đầu nuôi cấy trong
60 ngày kể từ khi vận chuyển từ cơ sở của chúng tôi.
Chúng tôi cam kết rằng tất cả các vật liệu tuân thủ các thông số kỹ thuật được mô tả trong
Giấy chứng nhận phân tích và/hoặc Tài liệu sản phẩm.
Để biết chi tiết đầy đủ, vui lòng tham khảo
<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Tuyên bố Bảo hành.

| | |
|---|---|
| **Material Transfer Agreement required** | Yes |