A375-GFP

305665

GENERAL INFORMATION

Description

A375-GFP □人類惡性黑色素瘤細胞系 A375 的基因工程變異株，可穩定表達增強型綠色螢光蛋白（ eGFP）。 親本 A375 細胞系源自一名成人患者的皮膚黑色素瘤腫瘤，因其攜帶 BRAF V600E 突變，故被廣泛用作皮膚黑色素瘤的模型，特別適用於涉及致癌性 BRAF 訊號傳導的研究。 此突變會導致 MAPK/ERK 路徑的持續活化，從而驅動細胞增殖與存活，使 A375 細胞成為研究 BRAF 及 MEK 抑制劑等標靶療法的重要模型。此表達 GFP 的衍生細胞系在保留這些分子與表型特徵的同時，亦能應用於螢光相關研究。
透過穩定整合 eGFP 報告基因，可在體外與體內系統中對 A375-GFP 細胞進行即時可視化觀察。螢光成像技術有助於監測細胞增殖、遷移、侵襲及形態變化，並能追蹤異種移植模型中的腫瘤生長與轉移擴散。 相較於早期 GFP 構建體，這種增強型 GFP 變體具有更高的亮度與穩定性，即使在細胞數量較低的情況下也能實現高靈敏度的檢測。這使得 A375-GFP 在共培養實驗、高內容成像平台，以及需要精確空間解析度來觀察腫瘤細胞行為的研究中，具有特別實用的價值。
A375-GFP 保留了親代黑色素瘤細胞系的侵襲性與增殖性表型，包括對 MAPK 路徑抑制劑的反應性，以及在實驗模型中的侵襲與轉移能力。加入 GFP 擴展了其在藥物篩選、活細胞成像及腫瘤與微環境相互作用研究中的應用範圍。 與其他標記有報告基因的細胞系一樣，建議針對特定實驗應用，驗證螢光在各傳代過程中的穩定性與一致性。
基因改造：透過複製無能的慢病毒轉導進行穩定改造，以表達 ZsGreen1 綠色螢光蛋白報告基因；在嘌呤酶篩選（1–5 µg/mL）下維持為多克隆細胞群。S1/BSL-1 防護等級。

Tissue	腿、皮膚
Disease	無色素性黑色素瘤

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（Cytion 型號 305665）

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_QZ67

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Antigen expression

ZsGreen1（綠色螢光蛋白）

Mutational profile

突變：BRAF，單一突變，p.Val600Glu (c.1799T>A)，純合子（源自親代細胞系）。突變， CDKN2A，簡單型，p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T)，純合子（源自親代細胞系）。突變， CDKN2A，簡單型，p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T)，純合子（源自親本細胞系）。突變， TERT，簡單型，c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T)，未指定，註：位於啟動子區域（源自親代細胞系）。

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

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

DMEM，含 4.5 g/L 葡萄糖、4 mM L-谷氨醯胺、3.7 g/L $NaHCO_3$ 及 1.0 mM 丙酮酸鈉（Cytion 產品編號 820300a）

Incubation atmosphere	37°C，5% CO_2，加濕環境。

Supplements

在培養基中加入 10% 的胎牛血清（FBS）

Dissociation reagent	Accutase

Subculturing

從貼壁細胞中移除舊培養基，並用不含鈣和鎂的 PBS洗滌細胞。T25培養瓶使用3-5毫升PBS，T75培養瓶則使用5-10毫升。 接著，用 Accutase 完全覆蓋細胞，T25 培養瓶使用 1–2 毫升，T75 培養瓶則使用 2.5 毫升。將細胞於室溫下孵育 8–10 分鐘，使其脫附。 孵育後，將細胞與 10 毫升培養基輕柔混合以使其重新懸浮，然後以 300xg 離心 3 分鐘。棄去上清液，將細胞重新懸浮於新鮮培養基中，並轉移至已預先加入新鮮培養基的新培養瓶中。

Seeding density	1 至 3 × 10^4 個細胞/cm^2
Fluid renewal	每週 2 至 3 次

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	作為冷凍保存培養基，我們使用完全生長培養基加上 10% 的二甲基亞砜（DMSO），以確保解凍後的細胞存活率達到適當水準。

Storage conditions

若需長期保存，請將試管置於溫度約為 −150 至 −196 °C 的氣相液氮中。僅在轉移至液氮之前，可將試管暫時存放於 −80 °C 環境中，作為短期過渡步驟。

Shipping conditions

冷凍保存的細胞系會以乾冰冷藏，並裝於經驗證的隔熱包裝中，包裝內含有足夠的冷媒，以確保在運輸過程中溫度維持在約 −78 °C。收到貨物後，請立即檢查容器，並盡快將試管轉移至適當的儲存場所。

DONOR

Donor age	54年
Ethnicity	高加索人

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

若計劃將低溫試管存放在液態氮中以供日後解凍，必須嚴格遵守相關安全措施。 必須穿戴適當的防護手套和防護服，且在將冷凍樣本移入或移出液氮罐時，必須佩戴口罩或安全護目鏡。此舉旨在降低因取出時冷凍試管可能發生爆炸而導致受傷的風險，此類爆炸可能造成尖銳碎片飛濺。

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

Warranty

在 Cytion，我們對產品的品質與存活率提供保障。
我們保證，自本公司設施出貨後
60 天內，我們的細胞在培養開始時仍具存活能力。
我們保證所有材料均符合
分析證明書及／或產品說明書中所載的規格。
詳情請參閱我們的
《保固聲明》。

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