

A375-GFP | 305665

Allgemeine Informationen

Description

A375-GFP ist eine gentechnisch veränderte Variante der menschlichen malignen Melanom-Zelllinie A375, die stabil das Enhanced Green Fluorescent Protein (eGFP) exprimiert. Die ursprüngliche A375-Zelllinie stammt von einem Hautmelanom eines erwachsenen Patienten und wird häufig als Modell für das kutane Melanom verwendet, insbesondere für Untersuchungen zur onkogenen BRAF-Signalübertragung, da sie die BRAF-V600E-Mutation aufweist. Diese Mutation führt zu einer konstitutiven Aktivierung des MAPK/ERK-Signalwegs, was die Proliferation und das Überleben fördert und A375-Zellen für die Untersuchung zielgerichteter Therapien wie BRAF- und MEK-Inhibitoren äußerst relevant macht. Das GFP-exprimierende Derivat behält diese molekularen und phänotypischen Eigenschaften bei und ermöglicht gleichzeitig fluoreszenzbasierte Anwendungen.

Die stabile Einbindung des eGFP-Reporters ermöglicht die Echtzeit-Visualisierung von A375-GFP-Zellen sowohl in In-vitro- als auch in In-vivo-Systemen. Die Fluoreszenzbildgebung erleichtert die Überwachung von Zellproliferation, Migration, Invasion und morphologischen Veränderungen sowie die Verfolgung des Tumorwachstums und der metastatischen Ausbreitung in Xenotransplantatmodellen. Die verbesserte GFP-Variante bietet im Vergleich zu früheren GFP-Konstrukten eine höhere Leuchtkraft und Stabilität und ermöglicht so einen sensitiven Nachweis selbst bei geringen Zellzahlen. Dies macht A375-GFP besonders nützlich für Kokultur-Experimente, High-Content-Imaging-Plattformen und Studien, die eine präzise räumliche Auflösung des Tumorzellverhaltens erfordern.

A375-GFP behält den aggressiven und proliferativen Phänotyp der ursprünglichen Melanomlinie bei, einschließlich der Reaktionsfähigkeit auf Inhibitoren des MAPK-Signalwegs und der Fähigkeit zur Invasion und Metastasierung in experimentellen Modellen. Die Einbringung von GFP erweitert den Einsatzbereich für das Wirkstoffscreening, die Live-Cell-Bildgebung und Untersuchungen zur Interaktion zwischen Tumor und Mikroumgebung. Wie bei anderen mit Reportern markierten Zelllinien wird für spezifische experimentelle Anwendungen eine Validierung der Fluoreszenzstabilität und -konsistenz über mehrere Passagen hinweg empfohlen.

Genetische Modifikation: Stabil modifiziert durch replikationsinkompetente lentivirale Transduktion zur Expression des grün fluoreszierenden Proteins ZsGreen1; als polyklonale Population unter Puromycin-Selektion (1–5 µg/mL) erhalten. Sicherheitsstufe S1/BSL-1.

Organism	Menschen
Tissue	Bein, Haut
Disease	Amelanotisches Melanom

Merkmale

Age	54 Jahre
Gender	Weiblich
Ethnicity	Kaukasisch

A375-GFP | 305665**Growth properties**

Adhärenz

Regulatorische Daten**Citation** A375-GFP (Cytion-Katalognummer 305665)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_QZ67

GMO Status GMO-S1: Diese Zelllinie enthält einen stabil integrierten ZsGreen1-Reporter (grün fluoreszierendes Protein), der durch replikationsinkompetente lentivirale Transduktion eingeführt wurde. Die daraus resultierende polyklonale Zellpopulation wurde unter Puromycin-Selektion (1–5 µg/ml) kultiviert. Eine S1-Sicherheitsstufe ist erforderlich. Diese Einstufung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Antigen expression ZsGreen1 (grün fluoreszierendes Protein)

Mutational profile Mutation: BRAF, einfach, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozygot (aus der Elternzelllinie). Mutation, CDKN2A, einfach, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozygot (aus der Elternzelllinie). Mutation, CDKN2A, einfach, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozygot (aus der Elternzelllinie). Mutation, TERT, einfach, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), nicht spezifiziert, Anmerkung=Im Promotor (aus der Elternzelllinie).

Handhabung

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

A375-GFP | 305665

Subculturing

Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Seeding density

1 bis 3×10^4 Zellen/cm²

Fluid renewal

2 bis 3 Mal pro Woche

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir vollständiges Wachstumsmedium + 10 % DMSO, um eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Die Mischung 5 Minuten lang bei 200 x g zentrifugieren und den Überstand mit dem Gefriermedium vorsichtig verwerfen.
7. Befolgen Sie das unter Wiederherstellung nach dem Auftauen beschriebene Verfahren

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, befeuchtete Atmosphäre.

A375-GFP | 305665

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse