

A375-GFP | 305665

Información general

Description

A375-GFP es una variante modificada genéticamente de la línea celular A375 de melanoma maligno humano, que expresa de forma estable la proteína fluorescente verde mejorada (eGFP). La línea celular parental A375 se deriva de un tumor de melanoma cutáneo de un paciente adulto y se utiliza ampliamente como modelo de melanoma cutáneo, especialmente en estudios relacionados con la señalización oncogénica de BRAF, ya que presenta la mutación BRAF V600E. Esta mutación provoca la activación constitutiva de la vía MAPK/ERK, lo que impulsa la proliferación y la supervivencia, y hace que las células A375 sean muy relevantes para investigar terapias dirigidas, como los inhibidores de BRAF y MEK. La variante que expresa GFP conserva estas características moleculares y fenotípicas, al tiempo que permite aplicaciones basadas en la fluorescencia.

La incorporación estable del reportero eGFP permite la visualización en tiempo real de las células A375-GFP tanto en sistemas in vitro como in vivo. La imagenología por fluorescencia facilita el seguimiento de la proliferación, la migración, la invasión y los cambios morfológicos de las células, así como el seguimiento del crecimiento tumoral y la diseminación metastásica en modelos de xenoinjertos. La variante mejorada de GFP ofrece mayor brillo y estabilidad en comparación con construcciones de GFP anteriores, lo que permite una detección sensible incluso con un número reducido de células. Esto hace que A375-GFP resulte especialmente útil en experimentos de cocultivo, plataformas de imagen de alto contenido y estudios que requieran una resolución espacial precisa del comportamiento de las células tumorales.

La línea A375-GFP conserva el fenotipo agresivo y proliferativo de la línea parental de melanoma, incluida la respuesta a los inhibidores de la vía MAPK y la capacidad de invasión y metástasis en modelos experimentales. La incorporación de la GFP amplía su utilidad para el cribado de fármacos, la obtención de imágenes de células vivas y los estudios sobre la interacción entre el tumor y el microambiente. Al igual que con otras líneas celulares marcadas con reporteros, se recomienda validar la estabilidad y la consistencia de la fluorescencia a lo largo de los pases para aplicaciones experimentales específicas.

Organism Humano

Tissue Pierna, piel

Disease Melanoma amelanótico

Características

Age 54 años

Gender Mujer

Ethnicity Caucásico

Growth properties Adherente

A375-GFP | 305665

Datos reglamentarios

Citation	A375-GFP (número de catálogo de Cytion: 305665)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_QZ67
GMO Status	GMO-S1: Esta línea de melanoma humano A375 contiene un constructo de expresión de GFP mejorada introducido mediante un vector lentiviral para su visualización fluorescente. Esta clasificación solo es válida en Alemania y puede diferir en otros países.

Datos biomoleculares

Antigen expression	ZsGreen1 (proteína fluorescente verde)
Mutational profile	Mutación: BRAF, simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), homocigótica (procedente de la línea celular parental). Mutación, CDKN2A, simple, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homocigótica (procedente de la línea celular parental). Mutación, CDKN2A, simple, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homocigótica (procedente de la línea celular parental). Mutación, TERT, simple, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), sin especificar, nota = en el promotor (procedente de la línea celular parental).

Manejo de

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)
Supplements	Complementar el medio con un 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.

A375-GFP | 305665

Seeding density De 1 a 3×10^4 células/cm²

Fluid renewal de 2 a 3 veces por semana

Freeze medium Como medio de criopreservación, utilizamos medio de crecimiento completo + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 200 x g durante 5 minutos, desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación.
7. Siga el procedimiento descrito en Recuperación post-descongelación

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

A375-GFP | 305665

**Storage
Conditions**

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA