

A375-GFP | 305665

Informations générales

Description

La lignée A375-GFP est une variante génétiquement modifiée de la lignée cellulaire A375 de mélanome malin humain, qui exprime de manière stable la protéine fluorescente verte améliorée (eGFP). La lignée cellulaire parentale A375 est issue d'un mélanome cutané chez un patient adulte et est largement utilisée comme modèle de mélanome cutané, en particulier pour les études portant sur la voie de signalisation oncogénique BRAF, car elle porte la mutation BRAF V600E. Cette mutation entraîne une activation constitutive de la voie MAPK/ERK, favorisant la prolifération et la survie des cellules, ce qui rend les cellules A375 particulièrement pertinentes pour l'étude de thérapies ciblées telles que les inhibiteurs de BRAF et de MEK. La lignée dérivée exprimant la GFP conserve ces caractéristiques moléculaires et phénotypiques tout en permettant des applications basées sur la fluorescence.

L'incorporation stable du rapporteur eGFP permet la visualisation en temps réel des cellules A375-GFP aussi bien dans des systèmes in vitro qu'in vivo. L'imagerie par fluorescence facilite le suivi de la prolifération, de la migration, de l'invasion et des changements morphologiques des cellules, ainsi que le suivi de la croissance tumorale et de la dissémination métastatique dans des modèles de xénogreffes. La variante améliorée de la GFP offre une luminosité et une stabilité accrues par rapport aux constructions GFP antérieures, permettant une détection sensible même à de faibles nombres de cellules. Cela rend l'A375-GFP particulièrement utile dans les expériences de co-culture, les plateformes d'imagerie à haut contenu et les études nécessitant une résolution spatiale précise du comportement des cellules tumorales.

La lignée A375-GFP conserve le phénotype agressif et prolifératif de la lignée parentale de mélanome, y compris la réactivité aux inhibiteurs de la voie MAPK et la capacité d'invasion et de métastase dans les modèles expérimentaux. L'ajout de la GFP élargit son champ d'application au criblage de médicaments, à l'imagerie de cellules vivantes et aux études sur les interactions entre la tumeur et son microenvironnement. Comme pour les autres lignées cellulaires marquées par un rapporteur, il est recommandé de vérifier la stabilité et la cohérence de la fluorescence au fil des passages pour des applications expérimentales spécifiques.

Organism Humain

Tissue Jambe, peau

Disease Mélanome amélanotique

Caractéristiques

Age 54 ans

Gender Femme

Ethnicity Caucasien

Growth properties Adhérent

A375-GFP | 305665

Données réglementaires

Citation	A375-GFP (référence Cytion 305665)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_QZ67
GMO Status	GMO-S1 : Cette lignée cellulaire de mélanome humain A375 contient un construct d'expression de GFP amélioré, introduit par un vecteur lentiviral, permettant une visualisation par fluorescence. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut varier dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Antigen expression	ZsGreen1 (protéine fluorescente verte)
Mutational profile	Mutation : BRAF, simple, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozygote (provenant de la lignée cellulaire parentale).Mutation, CDKN2A, simple, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozygote (provenant de la lignée cellulaire parentale).Mutation, CDKN2A, simple, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozygote (provenant de la lignée cellulaire parentale).Mutation, TERT, simple, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), non spécifiée, remarque = dans le promoteur (provenant de la lignée cellulaire parentale).

Manipulation

Culture Medium	DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO ₃ , w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

A375-GFP | 305665

Seeding density 1 à 3 x 10⁴ cellules/cm²

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 200 x g pendant 5 minutes, jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation.
7. Suivre la procédure décrite sous Récupération après décongélation

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

A375-GFP | 305665

**Storage
Conditions**

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA