

**A375-GFP | 305665****Algemene informatie****Description**

A375-GFP is een genetisch gemodificeerde variant van de menselijke kwaadaardige melanoomcellijn A375, die op stabiele wijze het versterkte groene fluorescerende eiwit (eGFP) tot expressie brengt. De oorspronkelijke A375-cel lijn is afkomstig van een huidmelanoomtumor bij een volwassen patiënt en wordt op grote schaal gebruikt als model voor cutaan melanoom, met name voor onderzoek naar oncogene BRAF-signalering, aangezien deze de BRAF V600E-mutatie bevat. Deze mutatie leidt tot een constitutieve activering van de MAPK/ERK-route, wat de proliferatie en overleving stimuleert en A375-cellen zeer geschikt maakt voor onderzoek naar gerichte therapieën, zoals BRAF- en MEK-remmers. Het GFP-expresserende derivaat behoudt deze moleculaire en fenotypische kenmerken en maakt tegelijkertijd toepassingen op basis van fluorescentie mogelijk.

Door de stabiele integratie van de eGFP-reporter kunnen A375-GFP-cellen zowel in in-vitro- als in-vivo-systemen in realtime worden gevisualiseerd. Fluorescentiebeeldvorming vergemakkelijkt het monitoren van celproliferatie, migratie, invasie en morfologische veranderingen, evenals het volgen van tumorgroei en metastatische verspreiding in xenotransplantaatmodellen. De verbeterde GFP-variant biedt een hogere helderheid en stabiliteit in vergelijking met eerdere GFP-constructen, waardoor gevoelige detectie mogelijk is, zelfs bij lage celaantallen. Dit maakt A375-GFP bijzonder bruikbaar in co-cultuurexperimenten, high-content beeldvormingsplatforms en onderzoeken die een nauwkeurige ruimtelijke resolutie van het gedrag van tumorcellen vereisen.

A375-GFP behoudt het agressieve en proliferatieve fenotype van de oorspronkelijke melanoomlijn, inclusief de respons op remmers van de MAPK-route en het vermogen tot invasie en metastase in experimentele modellen. De toevoeging van GFP vergroot de bruikbaarheid ervan voor het screenen van geneesmiddelen, beeldvorming van levende cellen en onderzoek naar de interactie tussen tumor en micro-omgeving. Net als bij andere met een reporter gemerkte cellijnen wordt aanbevolen om de stabiliteit en consistentie van de fluorescentie over verschillende passages heen te valideren voor specifieke experimentele toepassingen.

**Organism**

Mens

**Tissue**

Been, huid

**Disease**

Amelanotisch melanoom

**Kenmerken****Age**

54 jaar

**Gender**

Vrouw

**Ethnicity**

Kaukasisch

**Growth properties**

Aanhangend

## A375-GFP | 305665

## Regelgevende gegevens

<b>Citation</b>	A375-GFP (Cytion-catalogusnummer 305665)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_QZ67
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Deze menselijke A375-melanoomcellijn bevat een construct voor verhoogde GFP-expressie dat via een lentivirale vector wordt overgebracht voor fluorescentievisualisatie. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.

## Biomoleculaire gegevens

<b>Antigen expression</b>	ZsGreen1 (groen fluorescerend eiwit)
<b>Mutational profile</b>	Mutatie: BRAF, enkelvoudig, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozygoot (afkomstig van de oorspronkelijke cellijn). Mutatie, CDKN2A, eenvoudig, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozygoot (afkomstig van de oorspronkelijke cellijn). Mutatie, CDKN2A, eenvoudig, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozygoot (van oudercellijn). Mutatie, TERT, Eenvoudig, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), Niet gespecificeerd, Opmerking=In promotor (afkomstig van oudercellijn).

## Omgaan met

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)
<b>Supplements</b>	Vul het medium aan met 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

**A375-GFP | 305665**

**Seeding density** 1 tot  $3 \times 10^4$  cellen/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week

**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacion met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open de gedesinfecteerde flacon voorzichtig en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 5 minuten bij 200 x g en gooi het supernatant met vriesmedium voorzichtig weg.
7. Volg de procedure beschreven onder Herstel na ontdooien

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5%<sub>CO2</sub>, bevochtigde atmosfeer.

**Shipping Conditions**

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**Storage Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

**A375-GFP | 305665**

**Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA**