

A375-GFP | 305665**Informações gerais****Description**

A375-eGFP é uma variante geneticamente modificada da linha celular A375 de melanoma maligno humano, que expressa de forma estável a proteína fluorescente verde melhorada (eGFP). A linha celular parental A375 é derivada de um tumor de melanoma cutâneo num doente adulto e é amplamente utilizada como modelo para o melanoma cutâneo, particularmente para estudos envolvendo a sinalização oncogénica do BRAF, uma vez que contém a mutação BRAF V600E. Esta mutação conduz à ativação constitutiva da via MAPK/ERK, impulsionando a proliferação e a sobrevivência, e tornando as células A375 altamente relevantes para a investigação de terapias direcionadas, tais como inibidores de BRAF e MEK. O derivado que expressa eGFP mantém estas características moleculares e fenotípicas, permitindo simultaneamente aplicações baseadas na fluorescência.

A incorporação estável do repórter eGFP permite a visualização em tempo real das células A375-eGFP tanto em sistemas in vitro como in vivo. A imagem por fluorescência facilita a monitorização da proliferação, migração, invasão e alterações morfológicas das células, bem como o acompanhamento do crescimento tumoral e da disseminação metastática em modelos de xenoinxertos. A variante GFP melhorada proporciona maior brilho e estabilidade em comparação com construções GFP anteriores, permitindo uma deteção sensível mesmo com baixos números de células. Isto torna o A375-eGFP particularmente útil em experiências de cocultura, plataformas de imagem de alto conteúdo e estudos que requerem uma resolução espacial precisa do comportamento das células tumorais.

A375-eGFP mantém o fenótipo agressivo e proliferativo da linha parental de melanoma, incluindo a resposta a inibidores da via MAPK e a capacidade de invasão e metástase em modelos experimentais. A adição de eGFP amplia a sua utilidade para o rastreio de fármacos, imagiologia de células vivas e estudos de interação tumor-microambiente. Tal como acontece com outras linhas celulares marcadas com repórteres, recomenda-se a validação da estabilidade e consistência da fluorescência ao longo das passagens para aplicações experimentais específicas.

Organism Humano**Tissue** Perna, pele**Disease** Melanoma amelanótico**Caraterísticas****Age** 54 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Caucasiano**Growth properties** Aderente

A375-GFP | 305665**Dados regulamentares****Citation** A375-eGFP (número de catálogo da Cytion 305665)**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_QZ67**GMO Status** GMO-S1: Esta linha de melanoma humano A375 contém uma construção de expressão de GFP melhorada, introduzida por um vetor lentiviral para visualização fluorescente. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.**Dados biomoleculares****Mutational profile** Mutações: BRAF, simples, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozigótica (proveniente da linha celular parental). Mutações, CDKN2A, Simples, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), Homozigótica (da linha celular parental). Mutações, CDKN2A, Simples, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), Homozigótica (da linha celular parental). Mutações, TERT, Simples, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), Não especificada, Nota=No promotor (da linha celular parental).**Manuseamento****Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo + 10% de DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada.

A375-GFP | 305665

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $200 \times g$ durante 5 minutos e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação.
7. Seguir o procedimento descrito em Recuperação pós-descongelamento

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

**Shipping
Conditions**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

**Storage
Conditions**

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196°C . O armazenamento a -80°C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA