

**A375-GFP | 305665****Obecné informace****Description**

A375-eGFP je geneticky modifikovaná varianta lidské buněčné linie A375 pocházející z maligního melanomu, která stabilně exprimuje zesílený zelený fluorescenční protein (eGFP). Původní buněčná linie A375 pochází z kožního melanomu dospělého pacienta a je široce používána jako model kožního melanomu, zejména pro studie týkající se onkogenní BRAF signalizace, protože obsahuje mutaci BRAF V600E. Tato mutace vede ke konstitutivní aktivaci signální dráhy MAPK/ERK, což podporuje proliferaci a přežití buněk a činí buňky A375 vysoce relevantními pro výzkum cílených terapií, jako jsou inhibitory BRAF a MEK. Derivát exprimující eGFP si zachovává tyto molekulární a fenotypové charakteristiky a zároveň umožňuje aplikace založené na fluorescenci.

Stabilní začlenění reportéru eGFP umožňuje vizualizaci buněk A375-eGFP v reálném čase jak v in vitro, tak v in vivo systémech. Fluorescenční zobrazování usnadňuje sledování buněčné proliferace, migrace, invaze a morfologických změn, stejně jako sledování růstu nádoru a metastatického šíření v modelech xenotransplantátů. Varianta s vylepšeným GFP poskytuje lepší jas a stabilitu ve srovnání s dřívějšími GFP konstrukty, což umožňuje citlivou detekci i při nízkém počtu buněk. Díky tomu je A375-eGFP obzvláště užitečný v experimentech s kokultivací, platformách pro high-content imaging a studiích vyžadujících přesné prostorové rozlišení chování nádorových buněk.

A375-eGFP si zachovává agresivní a proliferativní fenotyp mateřské linie melanomu, včetně citlivosti na inhibitory MAPK signální dráhy a schopnosti invaze a metastázování v experimentálních modelech. Přidání eGFP rozšiřuje jeho využitelnost pro screening léčiv, zobrazování živých buněk a studie interakce nádoru s mikroprostředím. Stejně jako u jiných buněčných linií značených reportérem se pro konkrétní experimentální aplikace doporučuje ověření stability a konzistence fluorescence v jednotlivých pasážích.

**Organism**

Člověk

**Tissue**

Noha, kůže

**Disease**

Amelanotický melanom

**Charakteristika****Age**

54 let

**Gender**

Ženy

**Ethnicity**

Kavkazský

**Growth properties**

Adherentní

**Regulační údaje**

**A375-GFP | 305665****Citation** A375-eGFP (katalogové číslo Cytion 305665)**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_QZ67**GMO Status** GMO-S1: Tato lidská melanomová buněčná linie A375 obsahuje konstrukt pro zvýšenou expresi GFP, který je do buněk zaveden pomocí lentivirového vektoru za účelem fluorescenční vizualizace. Tato klasifikace platí pouze v Německu a v jiných zemích se může lišit.**Biomolekulární data****Mutational profile** Mutace: BRAF, jednoduchá, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozygotní (z rodičovské buněčné linie). Mutace, CDKN2A, jednoduchá, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozygotní (z rodičovské buněčné linie). Mutace, CDKN2A, jednoduchá, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozygotní (z mateřské buněčné linie). Mutace, TERT, jednoduchá, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), nespecifikovaná, poznámka = v promotoru (z mateřské buněčné linie).**Zpracování****Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.

**A375-GFP | 305665**

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení buď okamžitě uložte kryovialku při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 200 x g po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte.
7. Postupujte podle postupu popsaneho v části Obnova po rozmrazení

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, zvlhčená atmosféra.

**Shipping  
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiwa, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage  
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

**Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**