

A375-GFP | 305665**Generel information****Description**

A375-eGFP er en genetisk modificeret variant af den humane maligne melanomcellelinje A375, der stabilt udtrykker forstærket grønt fluorescerende protein (eGFP). Den oprindelige A375-cellelinje stammer fra en hudmelanomtumor hos en voksen patient og anvendes i vid udstrækning som model for kutan melanom, især til studier af onkogen BRAF-signalering, da den bærer BRAF V600E-mutationen. Denne mutation fører til konstant aktivering af MAPK/ERK-signalvejen, hvilket fremmer proliferation og overlevelse og gør A375-celler særdeles relevante til undersøgelse af målrettede terapier såsom BRAF- og MEK-hæmmere. Det eGFP-udtrykkende derivat bevarer disse molekylære og fænotypiske egenskaber, samtidig med at det muliggør fluorescensbaserede anvendelser.

Den stabile inkorporering af eGFP-reporteren muliggør visualisering i realtid af A375-eGFP-celler i både in vitro- og in vivo-systemer. Fluorescensbilleddannelse letter overvågning af celleproliferation, migration, invasion og morfologiske ændringer samt sporing af tumorvækst og metastatisk spredning i xenotransplantatmodeller. Den forbedrede GFP-variant giver forbedret lysstyrke og stabilitet sammenlignet med tidligere GFP-konstruktioner, hvilket muliggør følsom detektion selv ved lave celletal. Dette gør A375-eGFP særligt nyttigt i co-kulturerksperimenter, high-content-billeddannelsesplatforme og studier, der kræver præcis rumlig opløsning af tumorcellers adfærd.

A375-eGFP bevarer den aggressive og proliferative fænotype fra den oprindelige melanomlinje, herunder reaktivitet over for MAPK-signalvejsinhibitorer og evnen til invasion og metastase i eksperimentelle modeller. Tilføjelsen af eGFP udvider dens anvendelighed til lægemiddelscreening, levende cellebilleddannelse og undersøgelser af interaktionen mellem tumor og mikromiljø. Som med andre reporter-mærkede cellelinjer anbefales validering af fluorescensstabilitet og konsistens på tværs af passager til specifikke eksperimentelle anvendelser.

Organism

Menneske

Tissue

Ben, hud

Disease

Amelanotisk melanom

Karakteristika**Age**

54 år

Gender

Kvinde

Ethnicity

Kaukasisk

Growth properties

Vedhæftende

Regulatoriske data

A375-GFP | 305665**Citation** A375-eGFP (Cytion-katalognummer 305665)**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_QZ67**GMO Status** GMO-S1: Denne humane A375-melanomcellelinje indeholder et konstrukt til forstærket GFP-ekspression, der er indført via en lentiviral vektor med henblik på fluorescerende visualisering. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.**Biomolekylære data****Mutational profile** Mutation: BRAF, enkel, p.Val600Glu (c.1799T>A), homozygot (fra forældrecellelinje). Mutation, CDKN2A, enkel, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homozygot (fra forældrecellelinje). Mutation, CDKN2A, enkel, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homozygot (fra forældrecellelinje). Mutation, TERT, Enkel, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), Uspecificeret, Bemærkning=I promotor (fra forældrecellelinje).**Håndtering****Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium + 10 % DMSO for at opnå tilstrækkelig levedygtighed efter optøning.

A375-GFP | 305665

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelse skal du enten opbevare kryohætteglasset med det samme ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller fortsætte til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør celled suspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 200 x g i 5 minutter, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder frysemedium.
7. Følg proceduren beskrevet under Post-Thaw Recovery

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

**Shipping
Conditions**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

**Storage
Conditions**

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA