Product sheet

A375-GFP | 305665

Γενικές πληροφορίες

Description	Η A375-GFP είναι μια γενετικά τροποποιημένη παραλλαγή της ανθρώπινης κυτταρικής σειράς A375 του κακοήθους μελανώματος, η οποία εκφράζει σταθερά την ενισχυμένη πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη (eGFP). Η μητρική κυτταρική σειρά A375 προέρχεται από όγκο μελανώματος του δέρματος σε ενήλικα ασθενή και χρησιμοποιείται ευρέως ως μοντέλο για το δερματικό μελάνωμα, ιδίως για μελέτες που αφορούν την ογκογονική σηματοδότηση BRAF, καθώς φέρει τη μετάλλαξη BRAF V600E. Αυτή η μετάλλαξη οδηγεί σε διαρκή ενεργοποίηση της οδού MAPK/ERK, προωθώντας τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση, και καθιστώντας τα κύτταρα A375 ιδιαίτερα κατάλληλα για τη διερεύνηση στοχευμένων θεραπειών, όπως οι αναστολείς BRAF και MEK. Το παράγωγο που εκφράζει GFP διατηρεί αυτά τα μοριακά και φαινοτυπικά χαρακτηριστικά, ενώ παράλληλα επιτρέπει εφαρμογές που βασίζονται στη φθορισμό. Η σταθερή ενσωμάτωση του αναφορέα eGFP επιτρέπει την απεικόνιση σε πραγματικό χρόνο των κυττάρων A375-GFP τόσο σε συστήματα in vitro όσο και in vivo. Η απεικόνιση φθορισμού διευκολύνει την παρακολούθηση του πολλαπλασιασμού, της μετανάστευσης, της εισβολής και των μορφολογικών αλλαγών των κυττάρων, καθώς και την παρακολούθηση της ανάπτυξης του όγκου και της μεταστατικής εξάπλωσης σε μοντέλα ξενομοσχεύματος. Η ενισχυμένη παραλλαγή GFP παρέχει βελτιωμένη φωτεινότητα και σταθερότητα σε σύγκριση με παλαιότερα κατασκευάσματα GFP, επιτρέποντας ευαίσθητη ανίχνευση ακόμη και σε χαμηλούς αριθμούς κυττάρων. Αυτό καθιστά το A375-GFP ιδιαίτερα χρήσιμο σε πειράματα συν-καλλιέργειας, πλατφόρμες απεικόνισης υψηλού περιεχομένου και μελέτες που απαιτούν ακριβή χωρική ανάλυση της συμπεριφοράς των καρκινικών κυττάρων. Το A375-GFP διατηρεί τον επιθετικό και πολλαπλασιαστικό φαινότυπο της γονικής σειράς μελανώματος, συμπεριλαμβανομένης της ανταπόκρισης στους αναστολείς της οδού MAPK και της ικανότητας εισβολής και μετάστασης σε πειραματικά μοντέλα. Η προσθήκη της GFP διευρύνει τη χρησιμότητά του για τον έλεγχο φαρμάκων, την απεικόνιση ζωντανών κυττάρων και τις μελέτες αλληλεπίδρασης όγκου-μικροπεριβάλλοντος. Όπως και με άλλες κυτταρικές σειρές που φέρουν δείκτη αναφοράς, συνιστάται η επαλήθευση της σταθερότητας και της συνέπειας της φθορισμού κατά τη διάρκεια των πασάζ για συγκεκριμένες πειραματικές εφαρμογές.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Πόδι, δέρμα
Disease	Αμελανωτικό μελάνωμα

Χαρακτηριστικά

Age	54 χρόνια
Gender	Γυναίκα
Ethnicity	Καυκάσιος

A375-GFP | 305665

Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	A375-GFP (αριθμός καταλόγου Cytion 305665)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_QZ67
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η ανθρώπινη σειρά κυττάρων μελανώματος A375 περιέχει ένα τροποποιημένο γονιδιακό κατασκεύασμα έκφρασης GFP που μεταφέρεται μέσω λοεντιϊκού φορέα για φθορίζουσα απεικόνιση. Η εν λόγω ταξινόμηση ισχύει μόνο στη Γερμανία και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Antigen expression	ZsGreen1 (πράσινη φθορίζουσα πρωτεΐνη)
Mutational profile	Μεταλλαγή: BRAF, απλή, p.Val600Glu (c.1799T>A), ομόζυγη (από γονική κυτταρική σειρά).Μετάλλαξη, CDKN2A, Απλή, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), Ομόζυγη (από γονική κυτταρική σειρά).Μετάλλαξη, CDKN2A, Απλή, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), Ομόζυγη (από γονική κυτταρική σειρά).Μετάλλαξη, TERT, Απλή, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), Μη προσδιορισμένη, Σημείωση=Στον προαγωγέα (από γονική κυτταρική σειρά).

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

A375-GFP | 305665

Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	1 έως 3 x 10^4 κύτ^{ταρα}/cm^2
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.
Thawing and Culturing Cells	1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά. 2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια. 3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου. 4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα. 5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά. 6. Φυγοκεντρήστε το μείγμα στα 200 x g για 5 λεπτά, απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το μέσο κατάψυξης. 7. Ακολουθήστε τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα Ανάκτηση μετά την απόψυξη
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση