

A375-GFP | 305665**Üldine teave****Description**

A375-eGFP on inimese pahaloomulise melanoomi rakuliini A375 geneetiliselt muundatud variant, mis ekspresseerib stabiilselt tugevdatud rohelist fluorestsentsvalku (eGFP). Algrakuliin A375 on saadud täiskasvanud patsiendi nahamelanoomi kasvajast ja seda kasutatakse laialdaselt nahamelanoomi mudelina, eriti uuringutes, mis hõlmavad onkogeenset BRAF-signaalimist, kuna see sisaldab BRAF V600E mutatsiooni. See mutatsioon viib MAPK/ERK signaalitee konstitutiivse aktiveerumiseni, soodustades proliferatsiooni ja ellujäämist ning muutes A375 rakud väga asjakohaseks sihtterapiate, nagu BRAF- ja MEK-inhibiitorite uurimisel. eGFP-d ekspresseeriv derivaat säilitab need molekulaarsed ja fenotüübilised omadused, võimaldades samal ajal fluorestsentsipõhiseid rakendusi.

eGFP-reporteri stabiilne inkorporeerimine võimaldab A375-eGFP-rakkude reaajas visualiseerimist nii in vitro kui ka in vivo süsteemides. Fluorestsentspildistamine hõlbustab rakkude proliferatsiooni, migratsiooni, invasiivsuse ja morfoloogiliste muutuste jälgimist, samuti kasvaja kasvu ja metastaatilise leviku jälgimist ksenotransplantaadi mudelites. Täiustatud GFP-variant pakub varasemate GFP-konstruktsioonidega võrreldes paremat heledust ja stabiilsust, võimaldades tundlikku avastamist isegi väikeste rakukoguste korral. See muudab A375-eGFP eriti kasulikuks ko-kultuuri eksperimentides, suure infosisaldusega pildistamisplatvormidel ja uuringutes, mis nõuavad kasvajakude käitumise täpset ruumilist eraldusvõimet.

A375-eGFP säilitab emaliini melanoomi agressiivse ja proliferatiivse fenotüübi, sealhulgas reageerimisvõime MAPK-signaalitee inhibiitoritele ning invasiivsuse ja metastaaside tekkimise võime eksperimentaalsetes mudelites. eGFP lisamine laiendab selle kasutusvõimalusi ravimite sõelumisel, elusrakkude pildistamisel ja kasvaja-mikrokeskkonna interaktsiooni uuringutes. Nagu teiste reporter-märgistatud rakuliinide puhul, on spetsiifiliste eksperimentaalsete rakenduste jaoks soovitatav valideerida fluorestsentsi stabiilsus ja järjepidevus passaažide vahel.

Organism Inimene**Tissue** Jalg, nahk**Disease** Amelanootiline melanoom**Omadused****Age** 54 aastat**Gender** Naised**Ethnicity** Kaukaasia**Growth properties** Kinnipeetav**Regulatiivsed andmed**

A375-GFP | 305665**Citation** A375-eGFP (Cytioni katalooginumber 305665)**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_QZ67**GMO Status** GMO-S1: See inimese A375 melanoomi rakuliin sisaldab tugevdatud GFP ekspressioonikonstrukti, mis on viidud sisse lentiviirusvektori abil fluorestsentsse visualiseerimise eesmärgil. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.**Biomolekulaarsed andmed****Mutational profile** Mutatsioon: BRAF, lihtne, p.Val600Glu (c.1799T>A), homosügootne (pärib vanemrakuliinist). Mutatsioon, CDKN2A, lihtne, p.Glu61Ter (c.181G>T) (p.Gly75Val, c.224G>T), homosügootne (pärib vanemrakuliinist). Mutatsioon, CDKN2A, lihtne, p.Glu69Ter (c.205G>T) (p.Gly83Val, c.248G>T), homosügootne (pärib vanemrakuliinist). Mutatsioon, TERT, lihtne, c.1-146C>T (c.250C>T) (C250T), täpsustamata, märkus = promootoris (pärib vanemrakuliinist).**Töötlemine****Freeze medium** Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.

A375-GFP | 305665

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Tsentrifuugige segu 5 minutit 200 x g juures, visake ettevaatlikult ära külmutusvedelikku sisaldav supernatant.
7. Järgige punktis "Taastamisjärgne taastamine" kirjeldatud menetlust

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA